

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Servet DURAN

**BAKIR (Cu), ÇİNKO (Zn), KADMİYUM (Cd) VE KARIŞIMLARININ
Oreochromis niloticus'TA BAZI HEMATOLOJİK PARAMETRELER
ÜZERİNE ETKİLERİ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2011

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAKIR (Cu), ÇİNKO (Zn), KADMİYUM (Cd) VE KARIŞIMLARININ
Oreochromis niloticus'TA BAZI HEMATOLOJİK PARAMETRELER
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Servet DURAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu Tez / /2011 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

.....
Prof. Dr. Cahit ERDEM
DANIŞMAN

.....
Prof. Dr. Bedii CİCİK
ÜYE

.....
Yrd. Doç. Dr. Özcan AY
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof. Dr. İlhami YEĞİNGİL
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FEF2009YL67

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

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAKIR (Cu), ÇİNKO (Zn), KADMIYUM (Cd) VE KARIŞIMLARININ *Oreochromis niloticus*'TA BAZI HEMATOLOJİK PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİLERİ

Servet DURAN

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

Danışman :Prof.Dr.Cahit ERDEM

Yıl: 2011, sayfa: 37

Juri :Prof.Dr.Cahit ERDEM

:Prof.Dr.Bedii CİCİK

:Yrd.Doç.Dr. Özcan AY

Hematolojik parametrelerin balıklarda stres nedeni ile ortaya çıkan fizyolojik değişimleri saptamada önemli bir yer tutması nedeniyle, bu araştırmada bakır (5 ppm), çinko (5 ppm) ve kadmiyumun (1ppm) subletal derişimleri ile karışımlarının etkisinde *Oreochromis niloticus*'ta hematokrit düzeyi, eritrosit alanı ve eritrosit nukleus alanı ile eritrosit sayılarının 24, 48 ve 96 saatlerde belirlenmesi amaçlanmıştır.

Anılan parametrelerden hematokrit düzeyi kan örneklerinin hematokrit skalasında % olarak değerlendirilmesiyle, eritrosit sayıları ışık mikroskobunda sayma yöntemi ile eritrosit ve eritrosit nukleus alanları boyanmış yayma preparatların araştırma mikroskobunda incelenmesiyle belirlenmiştir.

Hematokrit düzeyi karışımın etkisinde 96 saatte artma gösterirken, eritrosit sayısı 48 saatte Cd etkisinde düşmüştür. Belirlenen diğer kan parametrelerinde denenen süre ve derişimlerde bir değişim gözlenmemiştir.

Bu bilgiler ışığında, *O. niloticus*'da denenen derişim ve sürelerde belirlenen metal ya da karışımlarının bu türde kısa sürede etki gösterdiği, homeostatik mekanizmaların 24 saat içerisinde devreye girerek kan parametrelerini normale dönüştürdüğünü ya da kalıcı etkinin uzun süreli etkide kalma ile ortaya çıktığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Bakır, Çinko, Kadmiyum, Hematolojik parametreler, *Oreochromis niloticus*

ABSTRACT

MSc THESIS

<p>EFFECTS OF COPPER (Cu), ZINC (Zn), CADMIUM (Cd) AND THEIR MIXTURE SOME HEMATOLOGICAL PARAMETERS of <i>Oreochromis niloticus</i></p>

Servet DURAN

**ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE of NATURAL and APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT of BIOLOGY**

Supervisor :Prof. Dr. Cahit ERDEM
Year: 2011, Pages: 37
Jury :Prof. Dr. Cahit ERDEM
:Prof. Dr. Bedii CİCİK
:Asst. Prof. Dr. Özcan AY

Since physiological changes in metabolic parameters are important factors in determining the stress conditions in fish, the aim of the present study was to determine the effects of copper (5 ppm), zinc (5 ppm), cadmium (1 ppm) and their mixtures on hematocrit levels, erythrocyte and nucleus are and on the erythrocyte numbers of *O niloticus* after exposing the animals over 24, 48 and 96 hours.

Hematocrit levels were determined as percentage on a hematocrit scale, erythrocyte counts were made carried by counting under a light microscope and the area of erythrocytes and nucleus were carried on by dyed spreaded slides under microscope.

Hematocrit levels showed an increase under the effect of metal mixture after 96 hours of exposure while erythrocyte counts decreased after 48 hours of exposure under the effect of cadmium. No difference was observed in blood parameters at selected concentrations and periods.

It can be concluded that the tested concentrations of the metals and exposure periods was too short to observe metal action, the blood parameters returned to normal due to homeostasis within 24 hours or the permanent effect of the metals shows itself in prolonged exposure periods, exceeding 96 hours of exposure in this species.

Keywords: Copper, Zinc, Cadmium, Hematological parameters, *Oreochromis niloticus*

TEŞEKKÜR

Çalıőmalarımın her aőamasında yardımlarını esirgemeyen, yapıcı ve yönlendirici fikirleri ile bana daima yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Cahit ERDEM'e, tezimin her aőamasında büyük desteklerini gördüğüm Sayın Prof. Dr. Bedii CİCİK ve Yrd. Doç. Dr. Özcan AY'a sonsuz teşekkürler.

Laboratuar çalıőmalarım süresince bana destek veren Sayın Dr. Nuray ÇİFTÇİ, Yrd. Doç. Dr. Sahire KARAYTUĞ ve Yrd. Doç. Dr. Fahri KARAYAKAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezim süresince bana her türlü destek veren arkadaşlarım Mustafa TUNÇSOY, Ceyhun Can BUĞUR, Cihangir ÖZER, Özge TEMİZ ve Benay SEZER'e teşekkür ederim.

Çalıőmalarıma maddi destek sağlayan Çukurova Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne, çalıőmalarım esnasında tüm bölüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan Çukurova Üniversitesi, Biyoloji Bölüm Başkanlığı ve personeline içten teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin her aőamasında benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	5
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	11
3.1. Materyal.....	11
3.2. Yöntem.....	12
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	15
4.1. Bulgular.....	15
4.2. Tartışma.....	18
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	21
KAYNAKLAR.....	23
ÖZGEÇMİŞ.....	37

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1. Deneylerin yürütüldüğü laboratuvar ve stok akvaryumlarındaki ortamın bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri	12
Çizelge 4.1. Bakır, çinko, kadmiyum ve karışımlarının <i>O. niloticus</i> 'un hematokrit düzeyi (%) üzerine etkileri	15
Çizelge 4.2. Bakır, çinko, kadmiyum ve karışımlarının <i>O. niloticus</i> 'un eritrosit alanı (μm^2) üzerine etkileri	16
Çizelge 4.3. Bakır, çinko, kadmiyum ve karışımlarının <i>O. niloticus</i> 'un eritrosit nükleus alanı (μm^2) üzerine etkileri	16
Çizelge 4.4. Bakır, çinko, kadmiyum ve karışımlarının <i>O. niloticus</i> 'un eritrosit sayısı (10^6 hücre/ mm^3) üzerine etkileri	17

1. GİRİŞ

Kirlenme ekosistemde bulunan herhangi bir bileşen düzeyinin canlı ya da cansız bileşenleri olumsuz yönde etkileyecek ve yapısal zararlar oluşturarak niteliklerini bozacak derecede artması olayı olarak tanımlanabilir. Yerkürenin hemen her kesiminde temel bir kirletici gurubu olarak kabul edilen ağır metaller normalde doğanın temel bileşenleri olup, bu metallerin on binlerce yıl boyunca tarım, sanayi ve endüstri alanlarında kullanılmak üzere insanlar tarafından çıkartılarak işlenmesi ve döngülerinin hızlandırılması ortamdaki derişimlerinin giderek artmasına neden olmuştur.

Ksenobiyotik grubuna giren kadmiyum, cıva, kurşun gibi metallerin herhangi bir biyolojik işlevi olmayıp, çok düşük düzeylerde bile toksik etkileri vardır. Bakır, çinko, demir gibi diğer bazı ağır metallerin ise, çeşitli biyokimyasal olaylarda aldıkları roller nedeni ile organizmanın yaşamı için eser miktarlarda bulunması gerekir (Amundsen ve ark., 1997). Ancak bu metaller de belirli derişimlerin üzerinde organizmaların solungaç, karaciğer ve böbrek gibi metabolik aktif organlarında birikmekte ve toksik etkilerini göstermektedirler (Erdem ve Kargın, 1992; Sağlamtimur ve ark, 2004; Karaytuğ ve ark., 2007). Ağır metaller subletal derişimlerde bile su organizmalarında metabolik, fizyolojik ve biyokimyasal olaylarda değişime neden olurken (DeConto-Cinier ve ark., 1999; Dethloff ve ark., 1999), yüksek derişimlerde doğrudan mortaliteye neden olmaktadır (Hollis ve ark., 2001). Ağır metallerin toksik etkileri türe (Romeo, 1999; Göksu ve ark., 2005), yaşam evresine (Nguyen, ve Janssen, 2002; Canlı ve Atlı, 2003), eşeye (Larsson ve ark., 1985; Authman, 2008), metale (Amiard, 1976), etkide kalma süresine ve ortamın fiziksel ve kimyasal özelliklerine (Hollis ve ark., 2000; Witeska, 2003; Blanchard ve Grosell, 2005) göre değişim gösterebilmektedir.

Hematolojik parametreler balıklarda stres nedeni ile ortaya çıkan fizyolojik derişimleri saptamada önemli bir yer tutmaktadır (Stoskopf, 1993; Adeyemo ve ark., 2003; Gabriel ve ark., 2007). Ağır metallerin, balıklar tarafından ortamdaki alınımı temelde solungaçlar ve sindirim kanalı yolu ile olması nedeniyle (Cicik, 2003; Hoyle ve ark., 2007; Sappal ve ark., 2009), metal her iki yoldan da doğrudan

kana geçmekte ve etkileri öncelikle bu dokuda görülmektedir. Bu nedenle, herhangi bir stres etkeninin balıkta oluşturabileceği fizyolojik ve biyokimyasal değişimleri belirlemede bu parametreler yaygın olarak kullanılmaktadır (Cataldi ve ark., 1998). Balık eritrositlerinin, membranları, metallerin oluşturduğu oksidatif stres baskısında okside olabilen uzun zincirli (n-3) çoklu doymamış yağ asitlerince zengin olmaları nedeniyle *in vitro* toksisite çalışmalarında uygun model oluşturdukları belirtilmektedir (Gabryelak ve ark., 2000).

Bakır organizmalarca gereksinim duyulan bir metal olup, balıklarda çok sayıda enzimde ve oksidasyon reaksiyonlarında işlev yapar ve çeşitli metabolik ve fizyolojik olaylarda rol oynar. Mikronütrient olarak hemoglobin sentezi için gerekli olup, sitokrom oksidazın bileşimine girer (Benneth ve ark., 1995). Ancak bakırın ortamda belirli bir düzeyin üzerine çıkması su organizmalarının dokularında birikmesine ve akut ya da kronik toksik etkiler yapmasına neden olmaktadır (Oliafa ve ark., 2004). Akut etki balıklarda doğrudan ölüme neden olurken, kronik etkisinde solungaç, karaciğer, dalak ve böbrekler gibi metabolik olarak aktif organlarda birikmesine ve uzun süreli etkide gelişim, üreme ve davranış bozukluklarına neden olmaktadır.

Balıklarda solungaç dokusu yüzey alanının geniş olması nedeniyle ortamda bulunan bakır için hedef organlar olup metal öncelikle bu organdaki mukus üretimini arttırmakta ve solungaç lamellerinde şişmeye sonuçta hipoksia'ya neden olmaktadır (De Boeck ve ark., 2007). Sodyum bakımından fakir olan yumuşak sularda bakır solungaçlardaki apikal hücrelerce alınarak sodyum alınımını engellemekte, Na^+/K^+ ATP-ase'ı inhibe ederek iyon dengesini bozmakta ve mortaliteye neden olmaktadır.(Van Heerden ve ark., 2004). Bu toksik etkiler balık kanında biyokimyasal ve fizyolojik değişimlerle sonuçlanmaktadır. Kanın işlevi vücudun iç çevresini sabit tutarak doku dengesini sürdürmek olduğundan, kanda meydana gelen olası değişimler balığın fizyolojik durumunun bir belirtecidir (Banerjee ve Homechaudhuri, 1990; Heath, 1995; Mazon ve ark., 2002). Bakır balıklarda hemoglobin, hematokrit, serum glikozu, protein kortizol ve karbohidrat metabolizması ile ilgili enzimler üzerine etki etmektedir (Cicik ve Erdem, 1992; Kalay ve Erdem, 1995; Karayakar ve ark., 2005).

Çinko tüm organizmalar tarafından gereksinim duyulan bir iz element olup, karbonik anhidraz, alkalın fosfataz, asit fosfataz, laktik dehidrojenaz ve supreroksit dismutaz gibi iki yüzü aşkın metallo-enzim ve diğer metabolik bileşiklerin bir bileşenidir (Casey ve Hambidge, 1980). Diğer taraftan DNA gibi biyolojik molekülleri, membran ve ribozomlar gibi yapıları dengeler, hücre bölünmesi, büyüme, metabolizma ve bağışıklıkta işlevleri vardır (Cousins, 1998). Organizmalarda çinkonun %99'u proteinlere bağlı olarak bulunurken, bunun %85 kadarı albüminlere zayıf, %15 kadarı ise α 2- makroglobulinlere güçlü bağ yapmakta, çok düşük bir kısmı ise düşük molekül ağırlıklı hücre bileşenleri olarak bulunmaktadır (Naber ve ark., 1994; Akahori ve ark., 1999). Çinkonun su organizmaları için ortamdaki önerilen düzeyleri tatlı sularda 47 μ g/L'nin tuzlu sularda ise 58 μ g/L'nin altındadır. Çeşitli bitkisel ve hayvansal organizmalarda çinko eksikliği büyüme, gelişme, üreme ve yaşam üzerine önemli etkiler yaparken, ortamda fazla çinkonun bulunması su organizmalarında çeşitli toksik etkilere neden olmaktadır (Watanabe ve ark., 1997; Glover ve Hogstrand, 2002).

Balıklarda çinkonun hedef organı solungaç epiteli olup hypoksia'ya neden olmakta diğer taraftan ozmoregülasyon bozuklukları, asidosis, atardamarlarda düşük oksijen basıncı ve solungaç ve iç organlarda gaz değişimi aksamalarına neden olmaktadır (Spear, 1981). Çinkonun balıklarda solunum ve kalp fizyolojisinde değişimlere neden olduğu belirtilmektedir (Hughes ve Tort, 1985). Çinkonun organizmalarda yaptığı biyokimyasal değişimler arasında enzimler üzerinde yer alan diğer metallerin yerini alması, tiyol gurupları ve bazı aminoasitlere bağlanarak polipeptid zincirinde yapısal değişimlere neden olması, canlı hücrelerde enerji durumunu etkilemesi, aşırı metallothionein üretimine neden olması ve tüm membranlarda iyon taşınım kanallarıyla etkileşime girmesi sayılabilir (Gabrelyak ve ark., 2002).

Organizmalarda herhangi bir biyolojik işlevi olmadığı bilinen kadmiyum su ve sedimentteki düzeyi, madencilik ve diğer metallerin arıtılması ile ilgili antropojenik faktörler sonucu armaktadır. Bu metalin subletal derişimlerde bile balıklarda davranış bozuklukları ve anoreksia sonucu premature doğuma, gelişimde duraksama ve anormallikler ve yüksek mortalite gibi morfolojik ve biyokimyasal

değişimlere neden olduğu bilinmektedir (Beholt ve ark., 1976; Bryan ve ark., 1995; Roch and Maly, 1979; Wong ve Wong 2000). Ek olarak hypokalsemia, hypokalemia ve hypoglycemia'ya neden olarak solunum fonksiyonlarını ve plazma bileşenlerini etkilemektedir (Sorensen 1991; Baldisserotto ve ark., 2004).

Organik ve inorganik maddelerle kompleks oluşturma yeteneği nedeniyle kadmiyum'un hücre yüzeyine hemen bağlandığı ve kalsiyumun benzer özelliklerini göstererek hücreye girdiği belirtilmiştir (Gagnon ve ark., 1998). Kadmiyum'un balıklarda neden olduğu bozukluların çoğu öncelikle kan dokusunda gözlemlenmekte olup (Witeska 2001), iyonik denge bozuklularına, protein, karbohidrat ve plazma kortizol düzeylerinde değişimlere neden olduğu bilinmektedir (Fu ve ark., 1989; Gill ve ark., 1993; De Smet ve Blust, 2001; Kalay ve Erdem, 2003).

Ekonomik önem taşıyan balık türlerinde hematolojik değişikliklerin incelenmesi gerek yetiştiricilikte verimliliğin artırılması ve hastalık oranının azaltılması, gerekse doğal koşullarda çeşitli çevresel faktörlerin etkisinde organizmanın metabolik ve fizyolojik durumunun belirlenmesinde önemli role sahiptir. Bu nedenle araştırmada iz element olan bakır ve çinko'nun 5,0'er ppm'lik konsantrasyonları ile toksik etkili kadmiyum'un 1,0 ppm'lik ortam derişimlerinin etkisinde 24, 48 ve 96 saat sürelerle bırakılan *O. niloticus*'da hematokrit düzeyi, eritrosit sayısı, eritrosit ve eritrosit nükleusunun alanlarındaki değişikliklerin karşılaştırmalı olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bakır ve çinko gibi ağır metaller, su ortamlarında genellikle eser miktarlarda bulunmakla birlikte gerek doğal gerekse endüstriyel, madencilik ve tarımsal aktiviteler gibi temelde antropojenik kaynaklı faktörlerin etkisi ile giderek artan derişimlerde bulunurlar. Bunun bir sonucu olarak, balıkların da içinde bulunduğu sucul organizmalar metallerin artan derişimlerinin etkisinde kalırlar (Cicik, 2003).

Ağır metallerin balıklarda mortalite üzerine etkileri türe, türün gelişme evresine, metale, metalin derişimine ve etkide kalma süresine bağlı olarak değişim göstermektedir. *Prochilodus scorfa*'da yapılan bir araştırmada bakırın 16 ppb'lik derişiminin 96 saat süreyle etkisinde mortalite gözlemezken, 51 ppb'lik derişiminin etkisinde 72. saat sonunda % 100 oranında mortalite gözlenmiştir (Taneskha, 2001).

Kadmiyumun *Oncorhynchus mykiss* juvenillerinde 3 ppm lik ortam derişiminin 30 gün süreyle etkisi % 10 oranında mortaliteye neden olurken (Hollis ve ark., 2001), *Clarias gariepinus*'da 0.25, 0.50 ve 1.0 ppm ortam derişimlerinin aynı süredeki etkisinin mortaliteye neden olmadığı, bu durumun incelenen derişimlerin anılan türde hoşgörü sınırları içerisinde olmasından kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Erdem ve ark., 2005).

Tilapia aurea'da 0.7–20 ppm Cd derişim aralığında mortalite gözlenmemiş ancak derişimin artması bu türde mortaliteye neden olmuştur (Abel, 1986). Kadmiyumun *T.nilotica*'da 0.1 ve 1.0 ppm ortam derişimlerinin 30 gün süreyle etkisinde mortalite gözlenmezken (Kargın, 1996), *Oreochromis mossambicus* da 200 ppb'lik derişiminin 96 saat süreyle etkisinde süre sonunda mortalite oranının % 100 olduğu saptanmıştır (Dethloff ve ark., 1999).

Bakırın *O. mykiss*'de 6.4, 16 ve 29 ppb'lik derişimlerinin 3, 7, 14 ve 21 gün süreyle etkisinin incelendiği bir çalışmada, 16 ve 29 ppb'lik derişimlerinin etkisinde başlangıçta mortalite gözlenmezken, 48 saat sonunda mortalitenin sınırlandığı belirlenmiştir (Erdem ve Kargın 1992). *O. niloticus*'da bakırın subletal derişimlerinin 30 gün süreyle etkisinde mortalite gözlenmezken, bakırın 10 ppm'lik derişiminde 30. günden sonra balıkların tamamının öldüğü gözlenmiştir (Sağlamtimur ve ark. 2003).

Balıklar ağır metal etkisi gibi değişen ortam koşullarına karşı öncelikli tepki olarak davranış değişimini göstermektedirler. *Cyprinus carpio*'da Cd, *P. reticulata*'da Cu etkisinin başlangıcında akvaryum yüzeyine yönelme, yüzme performansında düşme, besin alamama ve solungaçlardan mukus salınmasındaki artış, yüzgeç ışınlarında dikleşme ve fiziksel etkilere karşı duyarsızlık gibi değişikliklerin meydana geldiği belirtilmiştir (Khunyakari ve ark. 2001).

Balıkların doku ve organlarında biriken ağır metaller, etkide kalma süresine ve ortamdaki konsantrasyonuna bağlı olarak artmaktadır. Balıklarda belirli bir metalin hangi doku ve organda depo edileceği türlere göre değişim göstermektedir (Kargın ve Erdem, 1992). Ağır metallerin karaciğer, böbrek, dalak ve solungaç gibi metabolik olarak aktif organlarda yüksek düzeylerde birikimi, metallerin metabolik olayları doğrudan etkilemesi ile ilişkilendirilmiştir (Jezierska ve Witeska, 2002).

Berdan nehrinden örneklenen *C. carpio* ve *Capoeta capoeta* ile yapılan bir araştırmada karaciğer, solungaç ve kas dokularındaki Cd, Pb ve Cu birikim düzeyleri incelenmiş ve dokulardaki birikim düzeylerinin *C. carpio*'ya oranla *C. capoeta*'da daha yüksek olduğu saptanmıştır (Erdem ve ark., 2004). *C. carpio*'da Cu+Zn karışımı etkisinde karaciğer, solungaç ve kas dokularındaki metal birikiminin metallerin tek tek etkisinde belirlenen birikimden daha düşük olduğu belirlenmiştir (Cicik, 2003). *Oreochromis niloticus*'da Cd ve Cd+Cu karışımının dokulardaki Cd birikimi üzerine etkilerinin incelendiği bir araştırmada, kadmiyum etkisinde en fazla birikimin solungaç dokusunda, karışımın etkisinde ise böbrek dokusunda olduğu gözlenmiştir (Sağlamtimur ve ark., 2004). *O. mykiss*'de Cd birikimi en fazla böbreklerde gözlenirken, *Rutilus rutilus* ve *Noemacheilus barbatulus*'da en fazla birikim karaciğerde olmuştur (Brown ve ark., 1986). *O. niloticus*'ta Cd ve Zn'nin ayrı ayrı subletal derişimlerinin etkisinde karaciğer, solungaç ve kas dokularındaki birikim düzeyleri incelenmiş ve kadmiyum çinkoya oranla daha yüksek düzeyde biriktiği belirlenmiştir (Kargın ve Coğun, 1999).

Salmo trutta'da bakırın subletal derişimlerdeki etkisinin solungaç epiteli sekonder lamellerinde yapısal bozukluğa neden olurken, solungaçlardan oksijen transferini engelleyerek dorsal aorttaki kısmi oksijen basıncını düşürdüğü ve doku düzeyinde hipoksiya'ya neden olduğu belirlenmiştir (Beaumont ve ark., 2000).

O. niloticus'da kronik bakır etkisinin solungaç epiteli hücrelerinde hiperplasi, hipertropi ve proliferasyon gibi yapısal değişikliklere neden olurken, mukus salınımını arttırdığı, Na⁺/K⁺ ATPaz aktivitesini inhibe ederek ozmoregülasyon ile elektrolit düzeylerinde değişikliklere neden olduğu saptanmıştır (Monteiro ve ark., 2005).

Salvelinus fontinalis'de çinkonun solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında yüksek düzeyde birikirken kas dokusundaki birikimin düşük düzeyde olduğu saptanmıştır (Holcombe ve ark., 1979). 24, 48, 72 ve 96 saat süre ile 60 ppm bakır, 200 ppm çinko ve 30 ppm bakır + 100 ppm çinko etkisine bırakılan *T. nilotica*'nın karaciğer, solungaç ve kas dokularındaki metal birikimi araştırılmıştır. Ölüm oranının salt bakır veya çinkoya oranla bakır+çinko karışımında daha yüksek olduğu, en yüksek bakır birikiminin karaciğerde olduğu, dokulardaki bakır birikiminin çinko varlığında azalırken, bakırın çinko birikimini etkilemediği saptanmıştır (Kargın ve Erdem 1992).

Hematoloji balık hastalıklarının tanısının yanı sıra, beslenme ve çevresel etmenlerin etkilerini belirlemede de kullanılmaktadır. Hematolojik parametrelerin normal koşullarda ve değişen çevresel koşullarda değerlerinin belirlenmesi, popülasyonlar arasındaki tanıda ve su ortamındaki kirleticiler ile ilgili bilgilerin saptanmasında yardımcı olmaktadır (Azizoğlu ve Cengizler, 1996).

Balıklarda kan solungaçlar aracılığı ile ortam ile etkileşim halinde olduğundan kan parametreleri çok çabuk değişim gösterir. Kan parametreleri, metale, metalin ortam derişimi ve etkide kalma süresine bağlı olarak değişim gösterdiği gibi türe ve ortamın fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak da değişim göstermektedir (Lowe-Jinde ve Niimi., 1984; Dethloff ve ark., 1999).

Scophthalmus aquosus türünün 60 gün boyunca 10-20 µgL⁻¹ bakır etkisinde bırakılmasıyla anılan türün eritrosit, hemoglobin ve hematokrit değerlerinde kontrol grubuna oranla, önemli derecede farklılıklar gözlenmiştir (Dawson, 1990). LC₅₀ değerine yakın bakır derişine bırakılan bir yıllık *O. mykiss* ve *C. carpio*'nun eritrosit sayısı, hemoglobin konsantrasyonu ve hematokrit oranında bir artış gözlenmiştir (Svobodova ve ark., 1994). 3.2 mgL⁻¹ bakır etkisine bırakılan *Clarias lazera* türünde

uygulamadan 96 saat sonra hemoliz ve anemi görülmüştür (El-Domiaty, 1987). Bakır'ın $4,9 \text{ mmoll}^{-1}$ derişimi etkisinde 24 saat bırakılan *O. mykiss*'de, hemoglobin konsantrasyonu ve hematokrit yüzdesinde önemli bir artış izlenmiştir (Christensen ve ark., 1972).

Bakır etkisine bırakılan *S. gairdneri*'de derişime bağılı olarak solungaç iyon regulasyonunun bozulduğu ve serum Na^+ , K^+ ve Cl^- iyonlarının azaldığı gözlemlenmiştir. (Lauren ve McDonald, 1985). *O. mykiss*'de bakırın bağırsaklarda emildikten sonra portal damarlar yoluyla karaciğere taşındığını saptanmış ve bakırın etkisinde kan (serum) protein, trigliserid, alyuvar ve hematokrit düzeylerinin yavaş yavaş arttığını belirtilmiştir (Handy ve ark., 1999).

Tercan (Erzincan) İlçesi kanalizasyon atıklarının deşarj edildiğı Tuzla Çayından örneklenen *Capoeta capoeta* ile yapılan bir araştırmada, kanalizasyon atıklarının etkisinde kalan balıklarda, hematokrit düzeyinin düştüğü belirlenmiştir (Atamanalp ve ark., 2002).

Scyliorhinus canicula'da bakırın hematolojik parametreler üzerine etkileri incelenmiş, çok düşük Cu derişimlerinde hemoglobin düzeyi değışmezken eritrosit ve hematokrit düzeyinde azalma, yüksek bakır derişimlerinde ise incelenen tüm hematolojik parametrelerde azalmalar olduğu saptanmıştır (Tort ve ark., 1987).

Prochilodus scrofa'da bakırın 96 saatlik etkisinde süre sonunda alyuvar, hematokrit, hemoglobin ve plazma K^+ düzeylerinin arttığı bununla birlikte plazma Na^+ ve Cl^- düzeylerinin ise düştüğü saptanmıştır (Cerqueira ve Fernandes, 2002).

O. mykiss'de 6 farklı metalden oluşan karışımın etkisinde biyolojik parametrelerdeki değışiklikler araştırılmış ve $\text{Cu} + \text{Zn} + \text{Pb} + \text{Ni} + \text{Cr} + \text{Mn}$ 'nin $0.874 + 0.93 + 4.7 + 0.66 + 0.33 + 18.0 \text{ mg/l}$ derişimlerinin etkisine bırakılan balıkların kan parametrelerinin (hematokrit düzeyi, eritrosit ve lökosit sayısı) olumsuz etkilendiğı ve özellikle eritrosit sayısında önemli azalmanın meydana geldiğı rapor edilmiştir (Vosyliene ve Jankaite 2006).

A. anguilla'da kurşun'un subletal derişimlerinin etkisinin hematokrit düzeyini arttırdığı saptanmıştır. Hematokrit düzeyindeki artışın incelenen metallerin eritropoietik dokularda eritrosit üretimi ile dalaktan dolaşım sistemine eritrosit salınımını stimüle etmesinden kaynaklanabileceğı belirtilmiştir (Çiftçi ve ark., 2008).

T. tinca'da kadmiyumun yüksek derişimlerinin kısa süreli etkisinde, hematokrit ve hemoglobin düzeyleri ile eritrosit sayısı artarken, düşük derişimlerinin uzun süreli etkisi ile bu parametreler düşmüştür (Shah ve Altındağ, 2004). Kadmiyum etkisi ile *Anguilla rostrata*'da eritrosit membran bütünlüğü bozulmuş ve hücre yüzeyi anomalileri olan amitotik eritrositlerin sayısı artmıştır (Gill ve Epple, 1993).

Bakırın *O. mykiss*'de 0.125 ve 0.5 ppm'lik derişimlerinin akut etkisi başlangıçta hematokrit düzeyini arttırırken, etkide kalma süresinin uzaması ile kontrol düzeyine düştüğü ve değişmediği belirlenmiştir (Vosyliene, 1996).

15, 29, 64 ve 120 günlük sürelerle, sırasıyla 2, 10 ve 42 ppb Cd etkisinde bırakılan *C. carpio* türünün eritrosit sayısı, hemoglobin seviyesi ve hematokrit oranında çok az değişiklik görülmüştür (Yamawaki ve ark., 1986).

C. carpio'da Cd'un 10 ppm'lik derişiminin 3 saat süreyle etkisinden sonra 24 ve 48. saatlerde dolaşım sisteminde olgunlaşmamış eritrositlerin sayısı artarken, 96. saat sonunda nükleus ve membran anomalilere sahip eritrositlerin sayısının arttığı saptanmıştır (Witeska, 2001).

Bir saat süreyle 5 mg l⁻¹ kadmiyum etkisinde bırakılan *C. carpio*'da eritrosit sayısı ve hematokrit oranında değişiklik meydana gelmezken 1-3 saat süreyle 10 mg l⁻¹ Cd etkisinde ise bu parametrelerde artış izlenmiştir (Witeska ve Jezierska, 1994). 24 gün süreyle kadmiyum etkisinde bırakılan *Gobius niger* türünün eritrosit sayısı, hemoglobin seviyesi ve hematokrit oranında istatistiksel açıdan önemli bir değişiklik olmadığı saptanmıştır (Katalay, 1998).

Kadmiyumun *C. carpio* fingerliklerinde 0.1 ppm'lik ortam derişiminin 7 hafta süreyle etkisinde nükleus anomalilerine sahip eritrosit sayısını arttırdığı, bu artışın metalin eritropoietik dokularda eritropoiesisi etkilemesinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Witeska ve Baka, 2002).

45 gün süreyle 0,1-10,0 µg l⁻¹ kadmiyum etkisinde bırakılan *Oreochromis mossambicus* türünün hemoglobin değeri ile eritrosit sayısında bir azalma gözlenmiştir (Ruparella ve ark., 1990). LC₅₀ değerine yakın konsantrasyonlarda çinkoy çinko etkisinde bırakılan *C. carpio* türünün kanındaki hemoglobin konsantrasyonu ve hematokrit oranını azaltmıştır. Uzun süreli çalışmalarda ise 30

mg l^{-1} çinko etkisinde balıkların kan indekslerinde herhangi bir değişiklik görülmemiştir (Svobodova ve ark., 1994).

Çinko derişimlerinin etkisine bırakılan *C. carpio* eritrositlerinin fiziksel ve kimyasal değişimleri incelemiş, çinkonun sazan eritrosit zarlarındaki lipitlerin akışkanlığını azalttığı ve hücrelerin hemolize dirençliliğini önemli ölçüde engellediği saptanmıştır (Akahori ve ark. 1999). 22 mg l^{-1} ve 32 mg l^{-1} çinko etkisinde bırakılan *T. zilli* ve *C. lazera* gibi tatlı su balıklarınının 96 saat sonra kanlarındaki hemotokrit oranı ve hemoglobin konsantrasyonu artmıştır (Hilmy ve ark., 1987).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3. 1. Materyal

Çalışmada materyal olarak 16.9 ± 1.13 cm boy ve 71.95 ± 1.21 g ağırlıktaki *O. niloticus* türü kullanılmıştır. Balıklar Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Uygulama Birimlerinde yer alan yetiştirme havuzlarından sağlanmıştır. Deneyler Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi uygulama birimlerinde yer alan kontrollü ortam koşullarındaki Temel Birimler araştırma laboratuvarlarında yürütülmüştür.

Laboratuara getirilen balıklar stok cam akvaryumlar içerisinde bir hafta süre ile bekletilerek ortam koşullarına uyumları sağlanmıştır.

İncelenen metaller dikkate alınarak deneylerde 40x120x40cm boyutlarında 5 adet cam akvaryum kullanılmıştır. Akvaryumlardan ilk üçüne bakır (5 ppm), çinko (5 ppm) ve kadmiyumun (1 ppm) tek başına, dördüncü akvaryuma 120 litre belirlenen derişimlerdeki metal karışımı konulmuş, son akvaryuma ise metal içermeyen bekletilmiş musluk suyu konularak kontrol akvaryumu olarak kullanılmıştır.

Metal çözeltilerinin hazırlanmasında kadmiyumun klorür ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Merck), çinkonun sülfat ($\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Merck) ve bakırında sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Merck) tuzlarına trisodyumsitrat ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Merck) eklenerek hazırlanmıştır (Kargin ve Erdem 1989).

Deney her tekrarda üç balık olacak şekilde üç tekrarlı olarak yürütülmüş ve akvaryumların her birine 9 balık konulmuş toplamda 45 adet balık kullanılmıştır. Deney akvaryumlarında havalandırma, merkezi havalandırma sistemi ile sağlanmış, deney süresince balıklar günde bir kez toplam biyomasın vücut ağırlıklarının % 2'si kadar hazır balık yemi (Pınar; Pelet No:2) ile beslenmiştir.

Hematokrit, hemoglobin derişimi gibi çeşitli kan parametrelerinin su sıcaklığı ve tuzluluğu gibi çevresel faktörlerden etkilenebileceği (Anyanwu ve ark., 2007)) dikkate alınarak, deneylerin yürütüldüğü laboratuvar ve stok akvaryumlarındaki ortamın bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1. Deneylerin yürütüldüğü laboratuvar ve stok akvaryumlarındaki ortamın bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri.

Aydınlatma (Lab.)	: 12 saat aydınlık– 12 saat karanlık
Sıcaklık (Lab.)	: $25 \pm 1^\circ\text{C}$
Sıcaklık (akvaryum)	: $21.2 \pm 1^\circ\text{C}$
Toplam sertlik	: $268.7 \pm 4.8 \text{ mg CaCO}_3/\text{L}$
Toplam alkalinite	: $319 \pm 0.5 \text{ mg CaCO}_3/\text{L}$
Çözünmüş oksijen	: $6.46 \pm 0.6 \text{ mg/L}$
pH	: 7.57 ± 1

Deneyler süresince metal çözeltilerinin derişiminde adsorbsiyon, evoporasyon ve presipitasyon nedeniyle olası değişimler dikkate alınarak deney çözeltileri metallerin 1 ppm'lik standart çözeltilerinden seri seyreltme yöntemi ile hazırlanarak 24 saatte bir değiştirilerek ortam yenilenmiştir.

3.2. Yöntem

Belirlenen süreler sonunda her akvaryumdan çıkartılan 3 balık etilen glikol monofenil eter (=fenoksietanol, $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_2$, Merck) anestetik maddesi ile bayıltılmıştır. Vücut yüzeyindeki metal residüleri çeşme suyu ile yıkanıp uzaklaştırıldıktan sonra kurutma kağıdı ile kurutulup örneklemeye hazır hale getirilmiştir. Hematolojik parametrelerin incelenmesinde kullanılacak kan örnekleri her bir deneğin kaudal pedinkülünün vertikal kesilmesi yolu ile elde edilmiştir.

Kan örneklerinin hematokrit düzeylerinin belirlenmesinde enstrümental yöntemler kullanılmıştır. Hematokrit pipetine alınan kan örnekleri mikrohematokrit santrifüjünde (Nüve, NT 715/04-3272) 10.000 rpm'de 5 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonunda kan hücrelerinin seruma oranı hematokrit skalasında değerlendirilerek % olarak saptanmıştır. (Blaxhall ve Daisley, 1973; Atamanalp, 2003)

Örneklerin eritrosit sayıları ışık mikroskopunda sayma yöntemi ile belirlenmiştir. Bu amaçla balıklardan alınan kan örnekleri doğrudan sitratlı (%3,2 sodyum sitrat) tüplere aktarılmış ve sayımlarda Thoma lamı kullanılmıştır. Sayım

işleminde eritrosit pipetinin 1 rakamlı çizgisine kadar kan örneği 101 rakamlı çizgisine kadarda Dacie sıvısı çekilmiştir (Roberts, 1978). Bu şekilde 1/100 oranında sulandırılan kan örnekleri, pipetin ucundaki ilk bir iki damla uzaklaştırıldıktan sonra Thoma lamına alınmış ve ışık mikroskobunun X40 büyütmesinde incelenmiştir. Thoma lamında, her bir köşe ve ortadaki 16'lık 5 karede yer alan toplam 80 karedeki eritrositler sayılarak taranmış ve elde edilen verilerin aşağıdaki formülde yerine konmasıyla 1mm^3 kandaki eritrosit sayısı belirlenmiştir (Konuk, 1981; Gürgün ve Halkman, 1988).

Bulunan Hücre Sayısı x Sulandırma Oranı x 4000
Sayılan Küçük Kare Adedi

Eritrosit ve eritrosit nukleus alanları boyanmış yayma preparatların araştırma mikroskobunda incelenmesiyle belirlenmiştir. Bu amaçla bir damla kan lam üzerine damlatılarak yayma yapılarak hazırlanan preparatlar 1 saat süre ile kurutulmuş ve metanol içerisinde 25 dakika bekletilerek tespit edildikten sonra distile su ile yıkanmıştır. Eritrositlerde meydana gelen morfolojik değişimleri saptamak amacıyla preparatlar 1/10 oranında distile su ile seyreltilmiş Giemsa boyası içinde 20 dakika bekletilmiş ve çeşme suyu ile yıkanarak araştırma mikroskobunda (Nikon H550 – L) incelenmiştir. Her bir balığa ait boyanmış yayma preparatlarda en az 150 eritrosit ve nukleusunun uzun ve kısa kenarları ölçülerek aşağıda belirtilen formüllerden yardımı ile alanları saptanmıştır.

$$\text{Eritrosit alanı} = \pi \times \text{U.K.}^2 / 2 \times \text{K.K.}^2 / 2 \mu\text{m}^2$$

$$\text{Nukleus alanı} = \pi \times \text{U.K.}^2 / 2 \times \text{K.K.}^2 / 2 \mu\text{m}^2$$

*U.K = Uzun kenar

*K.K. = Kısa kenar

Deney verilerinin istatistik analizinde SPSS paket programı kullanılarak varyans analizi ve Students Newman Keul's testleri uygulanmıştır (Sokal ve Rohlf. 1969). Hematokrit düzeyi verileri yüzde değerler olduğundan istatistik analizlerden önce verilere arksin transformasyonu uygulanmıştır.

4.BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. BULGULAR

Belirlenen süre ve derişimlerde denenen metal ve karışımlarının etkisinde balıklarda mortalite gözlenmemiştir. Balıklar metal etkisi başlangıcında besin almama, yüzeye yönelme, operculum hareketlerinde artış, yüzmeye hareketlerinde koordinasyon bozukluğu gibi davranış bozuklukları göstermişlerdir..

İncelenen metallerin belirlenen derişimlerde tek tek ve karışımlarının etkisinde 24, 48, ve 96 sürelerde hematokrit düzeylerinde kontrole oranla önemli ayırım gözlenmemiştir ($P>0.05$). (çizelge 2) Hematokrit düzeyi etkide kalma süresine bağlı olarak bakır, çinko ve kadmiyumun etkisinde önemli bir değişim göstermezken karışımın etkisindeki artma istatistik olarak önemlidir ($P<0.05$).

Çizelge 2. Bakır, çinko, kadmiyumun ve karışımlarının *O. niloticus*'un hematokrit düzeyi (%) üzerine etkileri.

DERİŞİM (ppm)	SÜRE (Saat)					
	24		48		96	
	X ± sx	*	X ± sx	*	X ± sx	*
Kontrol	37.26 ± 1.23	abs	38.06 ± 0.59	abs	34.75 ± 0.30	abs
1 ppm Cd	32.76 ± 2.51	as	31.51 ± 0.56	as	34.21 ± 1.60	abs
5 ppm Cu	34.85 ± 0.70	abs	35.86 ± 0.40	as	35.46 ± 0.20	abs
5 ppm Zn	36.47 ± 0.52	abs	33.62 ± 0.41	as	32.33 ± 1.54	as
Cd+Zn+Cu	35.86 ± 0.87	abs	35.32 ± 0.89	as	39.03 ± 1.09	abt

*SNK; a ve b ile gösterilen harfler derişimler arası, s ve t harfleri ise süreler arası ayırımı göstermek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P < 0.05$ düzeyinde istatistik ayırım vardır

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

Metallerin tek tek ve karışımının eritrosit ve eritrosit nükleus alanı üzerine belirlenen süre ve derişimlerdeki etkileri Çizelge 3 ve 4 'de gösterilmiştir.

Çizelge 3. Bakır, çinko, kadmiyumun ve karışımlarının *O. niloticus*'un eritrosit alanı (μm^2) üzerine etkileri.

DERİŞİM (ppm)	SÜRE (Saat)		
	24 X ± Sx *	48 X ± Sx *	96 X ± Sx *
Kontrol	0.70 ± 0.01 as	0.70 ± 0.04 abs	0,71 ± 0,01 as
1 ppm Cd	0.72 ± 0.02 as	0.75 ± 0.01 bs	0,73 ± 0,03 as
5 ppm Zn	0.85 ± 0.12 as	0.73 ± 0.02 abs	0,68 ± 0,03 as
5 ppm Cu	0.70 ± 0.04 as	0.66 ± 0.02 as	0,71 ± 0,1 as
Cd+Zn+Cu	0.72 ± 0.04 as	0.72 ± 0.03 abs	0,69 ± 0,05 as

*SNK; a ve b ile gösterilen harfler derişimler arası ayırımı gösterirken, süreler arasında ayırım gözlenmemiştir (P > 0.05)

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

Çizelge 4. Bakır, çinko, kadmiyumun ve karışımlarının *O. niloticus*'un eritrosit nukleus alanı (μm^2) üzerine etkileri.

DERİŞİM (ppm)	SÜRE (Saat)		
	24 X ± Sx *	48 X ± Sx *	96 X ± Sx *
Kontrol	0.11 ± 0.01 as	0.12 ± 0.04 as	0.12 ± 0.04 as
1 ppm Cd	0.12 ± 0.07 as	0.13 ± 0.06 as	0.13 ± 0.06 as
5 ppm Zn	0.12 ± 0.09 as	0.12 ± 0.04 as	0.12 ± 0.04 as
5 ppm Cu	0.12 ± 0.02 as	0.13 ± 0.01 as	0.13 ± 0.14 as
Cd+Zn+Cu	0.11 ± 0.05 as	0.13 ± 0.09 as	0.12 ± 0.03 as

*SNK; derişimler arasında ayırım saptanmamıştır (P > 0.05)

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

Bakır, çinko, kadmiyum ve karışımları belirlenen süre ve derişimlerinin etkisinde eritrosit ve eritrosit nukleus alanlarında önemli bir değişime neden olmamıştır (P>0.05).

Metallerin tek tek ve karışımının eritrosit sayısı üzerine belirlenen süre ve derişimlerdeki etkileri Çizelge 5'de gösterilmiştir.

Çizelge 5. Bakır, çinko, kadmiyumun ve karışımlarının *O. niloticus*'un eritrosit sayısı (10^6 hücre/ mm^3) üzerine etkileri.

DERİŞİM (ppm)	SÜRE (Saat)		
	24 X ± Sx *	48 X ± Sx *	96 X ± Sx *
Kontrol	0,49 ± 0,18 as	1,18 ± 0,45 as	0,56 ± 0,05 as
1 ppm Cd	1,77 ± 0,04 bs	0,55 ± 0,25 at	1,30 ± 0,46 as
5 ppm Zn	0,91 ± 0,32 cs	0,82 ± 0,68 as	0,64 ± 0,53 as
5 ppm Cu	0,56 ± 0,40 as	1,15 ± 0,25 as	0,45 ± 0,17 as
Cd+Zn+Cu	1,22 ± 0,28 cs	1,52 ± 0,78 as	0,93 ± 0,44 as

*SNK; a, b ve c ile gösterilen harfler derişimler arası, s ve t harfleri ise süreler arası ayrımı göstermek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında P < 0.05 düzeyinde istatistik ayırım vardır

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

Eritrosit sayısı 48 ve 96 saatlik sürelerde kontrole oranla önemli bir artış göstermemiştir. Metal etkisi, bakır dışında, 24 saatlik etki süresi sonunda eritrosit sayısında artışa neden olmuştur (P<0.05). Eritrosit sayısındaki bu artış metaller arasında önemli ayırım göstermiştir (P<0.05). Kadmiyumun 48 saatlik etkisi dışında incelenen metallerin eritrosit sayısı üzerine etkileri süreye bağlı değişim göstermemiştir (P>0.05).

4.2. Tartışma

Balıklarda ağır metallerin mortalite üzerine etkileri türe, türün gelişim evresine, eşeye, metale, ortam derişimi ve etkide kalma süresine, ortamda diğer metallerin bulunmasına ve suyun fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlı olarak değişim göstermektedir. *Prochilodus scorpha*'da ortam derişimindeki artış 72 saat sonunda %100 oranında mortaliteye neden olmuştur (Taneskha, 2001). *O.mykiss*'de kadmiyumun subletal derişimleri 30 günlük etki süresinde mortaliteye neden olurken (Hollis ve ark., 2001), *C. gariepinus*'da mortaliteye neden olmamıştır (Erdem ve ark., 2005). *O.niloticus*'da bakırın subletal derişimlerinin 30 gün süre ile etkisinde mortalite gözlenmezken, 10 ppm ortam derişiminin etkisinde 30. günden sonra

mortalite oranı etkide kalma süresi arttıkça artmıştır (Sağlamtimur ve ark., 2003). *O. niloticus* ile yürütülen bu araştırmada da Cu, Zn ve Cd'un belirlenen derişimlerinin tek tek ve karışımlarının 24, 48 ve 96 saat etkisinde mortalite gözlenmemiştir. Belirlenen metal derişimlerinin etkisinde incelenen sürelerde mortalitenin gözlenmemesi anılan tür için etki süresinin kısa ve derişimlerin subletal olmasından kaynaklanabilir.

Su organizmaları yaşam ortamlarında gelişen herhangi bir stres faktörüne karşı öncelikle davranış bozukluklarıyla değişim gösterirler. Doğal ve laboratuvar koşullarında çeşitli balık türleri ile yürütülen araştırmalarda ağır metal etkisinin etkide kalma süresinin başında davranış değişikliklerine neden olduğu belirtilmektedir (Khunyakari ve ark., 2001; Levesque ve ark., 2002). Bu derişimler arasında yüzme performansında düşme, operkulum hareketlerinde artış ve besin dönüştürme kapasitende düşme sayılabilir. Bu araştırmada da *O.nilotica*'da metal etkisinde benzer davranışlar gözlenmiştir.

Balıklarda toksik etkili kimyasallar solungaç ve gastrointestinal sistem aracılığı ile vücuda alındıktan sonra kan aracılığı ile doku ve organlara taşındığından öncelikli olarak kan hücreleri ve eritropoietik dokularda yapısal ve işlevsel bozukluklara neden olurlar (Witeska ve Baka, 2002). *C.carpio* (Witeska ve Baka, 2002), *A.rostrata* (Gill ve Epple, 1993) ve *Salvelinus alpinus*'da (Hofer ve ark., 1992) kadmiyum etkisi hücre zarında anomalilere sahip eritrosit sayısında artışa neden olduğu, *C.carpio*'da kadmiyum ve kurşun etkisinin eritrositlerde şişme, eritrosit nükleus ve stoplazmasında vakuollere neden olduğu belirtilmektedir (Witeska, 2004).

Kan hücrelerinden eritrosit sayısı ile kan hücrelerinin seruma oranı olan hematokrit düzeyi, kanın oksijen taşıma kapasitesini yansıtanın yanı sıra eritropoietik dokuların işlevini yansıması bakımından da önem taşıyan bir parametredir (Witeska, 2005). *C.lazera* ve *T.zillii*'de sublethal derişimlerdeki çinko etkisi eritrosit sayısı ve hematokrit düzeyini düşürürken (Hilmy ve ark., 1987), *C.carpio* ve *O. mosambicus*'da bakır etkisinin eritrosit sayısı ve hematokrit düzeyini arttırdığı (Cyriac ve ark., 1989) belirlenmiştir. *C.carpio*'da kadmiyumun 5 ppm derişiminin 1 saat süreli etkisi hematokrit düzeyinde herhangi bir değişime etkisi

olmazken 10 ppm'lik derişiminin aynı süreli etkisi hematokrit düzeyinde artışa neden olmuştur (Witeska, 1998). Buna karşılık *O.mykiss*'de aynı derişimin kısa süreli etkisi hematokrit düzeyini düşürmüştür (Haux ve Larsson, 1984). *O. mykiss*'de Cu ve Zn'un ppb düzeyindeki derişimlerinin tek tek ve karışımlarının 2, 7, 14 ve 21 gün sürelerle etkisinde hematokrit düzeyinde herhangi bir değişime neden olmadığı bu durumun incelenen derişimlerin düşük olmasından kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Dethloff ve ark., 1999). *O.niloticus*'la yapılan bu araştırmada da metallerin tek tek ve karışımlarının belirlenen süre ve derişimlerinin etkisinde hematokrit düzeyi kontrole oranla değişim göstermezken, karışım etkisinde deney süresi sonunda hematokrit düzeyi artış göstermiştir.

Hayvansal organizmalarda kan, doku ve organlar arasında solunum gazları, besin maddeleri ve hormonların taşınması ile metabolik atıkların uzaklaştırılmasında işlev yapar. *O.mykiss*'de 0.125 mg/L bakırın 96 saat etkisinde eritrosit sayısında herhangi bir değişim gözlenmezken, çeşitli balık türlerinde 0.5 mg/L bakır etkisinde eritrosit sayısında artış gözlemlenmiştir (Vosyliene, 1996). *C.lazera*'da bakırın 3.2 ppm'lik derişiminin 96 saat süre ile etkisinin ozmotik hemoliz ve anemiye neden olduğu saptanmıştır (El-Domiaty, 1987). *C.carpio*'da kurşun, kadmiyum ve çinko etkisinin eritrosit anomalilerine neden olduğu belirlenmiş olup bunlar arasında kromatin materyalinin nukleusa yakın yerde yoğunlaşması ve kopması nukleusta yarımla sayılabilir (Witeska, 2004). Gill ve Pant (1983) balıklarda eritrosit nukleusunun metal toksisitesinde başlıca hedef organel olduğunu belirtmişlerdir.

Kan hücrelerindeki şekilsel ve hacimsel değişiklikler, toksik etkili kimyasalların spesifik göstergelerinden biri olup, bu değişiklikler arasında eritrosit ve eritrosit nukleus büyüklüğündeki değişiklikler, yapısal deformasyonlar sayılabilir (Vosyliene, 1999).

C. carpio fingerlinkleri ile yapılan bir araştırmada Pb, Cu, Cd ve Zn'un sırasıyla 10, 5, 10 ve 20 ppm'lik derişimlerinin etkisinde 3 saat süreyle bırakılan balıklarda eritrosit morfoljisinde değişiklikler incelenmiştir. Bakır etkisi dışında, balıklarda kromatin materyalinde yoğunlaşma, nukleusta şekilsel bozukluk, stoplazmada vakuollenme ve eritrositlerde şişme belirlenmiştir (Witeska, 2005). Aynı çalışmada metal etkisi hematokrit düzeyini arttırırken eritrosit sayısında her hangi bir değişime

neden olmadığı bunun da eritrositlerdeki şişmeden kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Eritrositlerdeki bu şişme de metal etkisinde ozmoregülasyondaki bozukluğa bağlı olarak kan plazmasının asidifikasyonu, eritrosit plazmasının alkalizasyonu sonucu su ve elektrolit alınımındaki bozuklukla açıklanmıştır.

O. niloticus ile laboratuvar koşullarında yürütülen bir araştırmada, bakır ve kurşunun 0.5 ve 1.0 ppm'lik derişimlerinin 7 gün süreyle etkisi eritrosit ve eritrosit nükleus alanlarında artışa neden olurken, 15. günde düşmeye neden olmuştur (Şahin, 2009). Yine *A. rostrata* (Gill ve Pant, 1986) ve *Puntius chonchonius* (Gill ve Pant, 1985)'de Cd'un subletal derişimlerinin uzun süreli etkisinin eritrosit alanında artışa neden olduğu belirlenmiştir. *O. niloticus* ile yürütülen bu araştırmada ise bakır, çinko ve kadmiyumun incelenen derişimlerinin tek tek ve karışımlarının belirlenen sürelerdeki etkisi gerek eritrosit gerekse eritrosit nükleus alanlarında önemli bir değişime neden olmamıştır. Bu da anılan türde incelenen parametreler için kullanılan metal derişimlerinin düşük, etki sürelerinin kısa olmasıyla açıklanabilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

O.niloticus'la yürütülen bu araştırmada bakır (5 ppm), çinko (5 ppm) ve kadmiyum (1 ppm) ile bu metallerin belirtilen derişimlerdeki karışımlarının etkisinde balığın hematokrit yüzdesi, eritrosit sayısı, eritrosit ve nukleuslarının alanları gibi kan parametreleri üzerine olan etkileri 24, 48 ve 96 saatlik sürelerde incelenmiştir.

İncelenen süre ve derişimlerde metallerin ve metal karışımının balıkların eritrosit alanı ve nukleus alanında bir değişime neden olmazken, eritrosit sayısının kadmiyumun 48 saat etkisinde düştüğü, hematokrit düzeyinin ise karışım etkisinde 96 saatte önemli düzeyde arttığı saptanmıştır.

Balıklarda stres koşulları, çeşitli kirleticiler, sıcaklık ve oksijen gibi ortamın fiziksel ve kimyasal yapısındaki herhangi bir faktörde oluşan değişimlerin etkileri sonucu oluşmakta ve bu değişimler öncelikle kan parametrelerini etkilemektedir. Balıklarda stres altında bu dokuda çok kısa sürede gözlenebilen bu değişimler belirli bir süre içerisinde homeostatik mekanizmalarla normal düzeye döndürülmekte, ancak stres faktörünün daha uzun sürelerle etkisinde kalıcı olmaktadır. *O.niloticus*'un kan parametrelerinde, denenen metal derişimi ve sürelerde, önemli bir değişimin gözlenmemesi denenen metal derişimlerinin düşük olmasından ya da ilk 24 saat içerisinde homeostatik mekanizmaların etkisiyle ölçülen parametrelerin normale dönüştürülmesinden kaynaklanabilir.

Hematolojik parametrelerinin, balığın fizyolojik durumunu yansıtması nedeniyle ortamdaki kirlilik düzeyinin belirlenmesi, üreticilikte hastalık ve mortalite görülmeden gerekli önlemlerin alınması ve kirleticilerin besin zinciri yolu ile daha üst trofik düzeylere yoğun olarak aktararak insan sağlığını etkilememesi bağlamında, sık sık saptanması önerilebilir.

KAYNAKLAR

- ABEL, P. D. and PATOUTSOGLU, S. E., 1986. Lethal Toxicity of Cadmium to *Cyprinus carpio* and *Tilapia aurea*. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 37, 382-386.
- ADEYEMO, O.K., AGBEDE, S.A., OLANIYAN, A.O. and SHOAGA, O.A., 2003. The Haematological Response of *Claria gariepinus* to Changes in Acclimation Temperature. African Journal of Biomedical Research, 6, 105-108.
- AKAHORI, A., GABRYELAK, T., JOZWIAK, Z., GONDKO, R., 1999. Zinc-Induced Damage to Carp (*Cyprinus carpio* L.) Erythrocytes *in vitro*. Biochem. Mol. Biol. Int., 47, 89-98.
- AKAHORI, A., JOZWIAK, Z., GABRYELAK, T. and GONDKO, R., 1999. Effect of Zinc on Carp (*Cyprinus carpio* L.) Erythrocytes. Comp. Biochem. Physiol., C, 123, 209-215.
- ALMEIDA, J. A., DINIZ, Y. S., MARQUES, S. F. G., FAINE, L. A., RIBAS, B. O., BURNEIKO, R. C. and NOVELLI, L. B., 2002. The Use of Oxidative Stress Responses as Biomarkers in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Exposed to *in vivo* Cadmium Contamination. Environ. Int., 27, 673-679.
- AMIARD, J. C., 1976. Experimental Study of Acute Toxicity of Salts of Cobalt, Antimony, Strontium and Silver Crustaceans and Their Larvae and in Some Teleosts. Rev. Int. Oceanog. Med. (Yug), 43, 79; Sel Water Resources Abs., 10, W77-07728.
- AMUNDSEN, P-A, STALDVIK J.F., LUKIN, A. A., KASHULIN A. N., POPAVA A. O. and RESHETNIKOV, S. Y., 1997. Heavy Metal Contamination in Freshwater Fish from the Border Region between Norway and Russia. The Science of the Total Environment, 201, 211-224.
- ANYANWU, P.E., GABRIEL, U.U., ANYANWU, A.O. and AKINRITIMI, A.O., 2007. Effect of Salinity Changes on Haematological Parameters of *Sarotherodon melanotheron* from Buguma Creek, Niger Delta. Journal of Animal and Veterinary Advances, 6(5), 658-662.

- ATAMANALP, M., 2003. Farklı Yetiştirme Sistemlerinin (Havuz ve Kafes) Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) Hemoglobin, Hematokrit ve Sediment Seviyeleri Üzerine Etkileri. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, 20, (1-2), 81-86.
- ATAMANALP, M., GÜNEŞ, M., 2002. Tuzla Çayı'nda (Tercan-Erzincan) yaşayan *C. capoeta umbla* Heckel, 1843' nın bazı hematolojik parametreleri (MCV, MCH ve MCHC) üzerine kentsel atıkların etkileri. Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Dergisi, 17(3): 5-10.
- AUTHMAN, M.M.N., 2008. *Oreochromis niloticus* as a Biomonitor of Heavy Metal Pollution with Emphasis on Potential Risk and Relation to Some Biological Aspects. Global Veterinaria, (3), 104-109
- AZIZOĞLU, A. and CENGİZLER, I., 1996. An Investigation on Determination of Haematological Parameters in Healthy *Oreochromis niloticus*. Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences, 20, 425- 431. (In Turkish).
- BALDISSEROTTO, B., KAMUNDE, C., MATSUO, A., and WOOD, C.M., 2004. A Protective Effect of Dietary Calcium against Acute Waterborne Cadmium Uptake in Rainbow Trout. Aquat. Toxicol., 67, 57–73.
- BANERJEE, S. and HOMECHAUDHURI, S., 1990. Hematological Monitoring of a Bio-indicator Fish, *Heteropneustes fossilis*, on Exposure to Copper Toxicity. Israel J. Aquacult., Bamiggeh, 42, 46-51.
- BEAUMONT, M. W., BUTLER, P. J. VE TAYLOR, E. W., 2000. Exposure of Brown Trout *Salmo trutta*, to a Sublethal Concentration of Copper in Soft Acidic Water, Effects upon Muscle Metabolism and Membrane Potential. Aquat. Toxicol., 51: 259-272
- BEHOLT, D.A., LEONHARD, E.N., CHRISTENSEN, G.M. and FIANDT, J.T., 1976. Toxic effects of Cadmium on three generations of brook trout (*Salvelinus fontinalis*). Trans. Am. Fish Soc., 105, 550–560.
- BENNETH, W.A., SOSA, A. and BEITINGER, T.L., 1995. Oxygen Tolerance of Fathead Minnows Previously Exposed to Copper. Journal of Environmental Contamination and Toxicology, 55 (4), 517 –524.

- BLANCHARD J. and GROSELL, M., 2005. Effects of Salinity on Copper Accumulation in the Common Killifish (*Fundulus heteroclitus*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 24 (6), 1403-1413
- BLAXHALL, P. C. and DAISLEY, K. W., 1973. Routine Haematological Methods for Use Fish with Blood. *J. Fish Biol.*, 5, 771-781.
- BROWN, M.W., THOMAS, D.G., SHURBEN, D. SOLBE, J.F.D., KAY, J. And CRYER, A., 1986. A Comparison of the Differential Accumulation of Cadmium in the Tissues of Three Species of Freshwater Fish, *Salmo gairdneri*, *Rutilus rutilus* and *Noemacheilus barbatulus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 84C (2), 213- 217
- BRYAN, M.D., ATCHISON, G.J., SANDHEINRICH, M.B., 1995. Effects of Cadmium on the Foraging Behavior and Growth of Juvenile Bluegill, *Lepomis macrochirus*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 52: 1630.1638.
- CANLI, M., and ATLI, G., 2003. The Relationships Between Heavy Metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) Levels and the Size of Six Mediterranean Fish Species. *Environmental Pollution*, 121: 129–136.
- CASEY, C.E. and HAMBIDGE, K. M., 1980. Epidemiological Aspects of Human Zinc Deficiency. Pages 1-27 in J. O. Nriagu, Editor. *Zinc in the Environment. Part II: Health Effects*. John Wiley, New York.
- CATALDI, E., DI MARCO, P., MANDICH, A., and CATAUDELLA, S., 1998. Serum Parameters of Adriatic Sturgeon *Acipenser naccarii* (Pisces: Acipenseriformes): Effects of Temperature and Stress, *Comp. Biochem. Physiol.*, vol. 121A, pp. 351– 354.
- CERQUEIRA, C. C. C. and FERNANDES, M. N., 2002. Gill Tissue Recovery After Copper Exposure and Blood Parameter Responses in the Tropical Fish *Prochilodus scrofa*. *Ecotoxicol. Environ. Safe.*, 52: 83–91.
- CİCİK, B., 2003. Bakır-Çinko Etkileşiminin Sazan (*Cyprinus carpio* L.)'nın Karaciğer, Solungaç ve Kas Dokularındaki Metal Birikimi Üzerine Etkileri. *Ekoloji*, 12(48), 32-36.

- CICIK B, ERDEM C 1992 *Tilapia nilotica*'da Bakırın Karaciğer ve Kas Dokularındaki Nicel Protein Derişimlerine Etkileri. *Biyokimya Dergisi* XVII, 1, 51-64.
- COUSINS, R.J., 1998. A Role of Zinc in the Regulation of Gene Expression. *Proc. Nutr. Soc.*, 57, 307–311.
- CHRISTENSEN, G.M., MCKIM, J.M., BRUNGS, W.A. and HUNT, E.P., 1972. Changes in the Blood of the Brown Bullhead (*Ictalurus nebulosus* Lesuer) Following Short and Long Term Exposure to Copper. *Toxicol. App. Pharmacol.*, 23, 417-427.
- CYRIAC, P. J., ANTONY, A. and NAMBISAN, P. N. K., 1989. Hemoglobin and Hematocrit Values in Fish *Oreochromis mossambicus* (Peters) after Short Term Exposure Copper and Mercury. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 43: 315–320.
- ÇİFTÇİ, N., CICIK, B., ERDEM, C. ve AY, Ö., 2008. Effects of Lead Concentrations on Sera Parameters and Hematocrit Levels in *Anguilla anguilla* (Linnaeus, 1758). *Journal of Fisheries Sciences*, 2(4), 616-622.
- DAWSON, M.A., 1990. Blood Chemistry of the Windowpane Flounder *Scophthalmus aquasus* in Long Island Sound: Geographical, Seasonal, and Experimental Variations. *Fishery Bulletin*, 88 (3), 429-437.
- De BOECK, G., Van der VEN, K., MEEUS, W. and BLUST, R., 2007. Sublethal Copper Exposure Induces Respiratory Stress in Common and Gibel Carp but not in Rainbow Trout. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 144, 380–390.
- De SMET, H., and BLUST, R., 2001. Stress Responses and Changes in Protein Metabolism in Carp *Cyprinus carpio* during Cadmium Exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 48, 255-262
- DETHLOFF, G.M., BAILEY, H.C. and MAIER, K.J., 2001. Effects of dissolved copper on select hematological, biochemical and immunological parameters of wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 40: 371-380.

- DECONTO-CINIER, C., PETIT-RAMEL, M., FAURE, R., GARIN, D. and BOUVET, Y., 1999. Kinetics of Cadmium accumulation and elimination in carp *Cyprinus carpio* Tissues. *Comp. Biochem. Physiol.*, 122(C), 345-352.
- DETHLOFF, G. M. SCHELENK, D., KHAN, S., BAILEY, H. C., 1999. The Effects of Copper on Blood and Biochemical Parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 36: 415-423.
- EISLER, R., 1993. Zinc Hazards to Fish, Wildlife, and Invertebrates: a Synoptic Review. U.S. Fish Wildl. Serv. Biol. Rep. 10.
- EISLER R., 1998. Copper Hazards to Fish, Wildlife, and Invertebrates: a Synoptic Review. U.S. Geological Survey, Biological Resources Division, Biological Science Report USGS/BRD/BSR-1997-0002. Contaminant Hazard Reviews, Report 33, 98 pp.
- EL-DOMIATY, N.A., 1987. Stress Response of Juvenile *Clarias lazera* Elicited by Copper. *Comp. Biochem. and Physiol.*, C88 (2), 259-262.
- ERDEM, C. VE KARGIN, F., 1992. *Cyprinus carpio* ile *Tilapia nilotica*'nın Karaciğer, Dalak, Barsak, Solungaç ve Kas Dokularındaki Bakır Birikiminin Karşılaştırmalı Olarak Araştırılması. *Biyokimya Dergisi*, 7(1): 13-27.
- ERDEM, C., AY, Ö., CİCİK, B. ve KARAYAKAR, F., 2004. Berdan Nehrinde Yaşayan Balıkların (*Cyprinus carpio*, *Capoeta caoeta*) Dokularında Bakır, Kadmiyum ve Kurşun Düzeyleri. *SDÜ. Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 1(11), 32-37.
- ERDEM, C., CİCİK, B., KARAYAKAR, S., KARAYAKAR, F. ve KARAYTUĞ, S., 2005. *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822)'da Kadmiyum'un Solungaç, Karaciğer, Böbrek, Dalak ve Kas Dokularındaki Birikimi ve Arıtımı. *SDÜ. Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 1, No:2, 17-24.
- FU, H., LOCK, R.A.C. and WENDELAAR BONGA, S.E., 1989. Effect of Cadmium on Prolactin Cell Activity and Plasma Electrolytes in the Freshwater Teleost *Oreochromis mossambicus*. *Aquatic Toxicology*, 14, 295-306.

- GABRIEL, O.K., ANYANWU, P.E. and AKINROTIMI, A.O., 2007. Effect of Freshwater Challenge on Blood Characteristics of *Sarotherodon melanotheron*. Agricultural Journal, 2 (3), 388-392.
- GABRYELAK, T., AKAHORI A., PRZYBYLSKA, M., JÓŹWIAK, Z., BRICHON, G., 2002. Carp Erythrocyte Lipids as a Potential Target for the Toxic Action of Zinc Ions. Toxicology Letters, 132, 57-64.
- GABRYELAK, T., FILIPIAK, A. and BRICHON, G., 2000. Effects of Zinc on Lipids of Erythrocytes from Carp (*Cyprinus carpio* L.) Acclimated to Different Temperatures. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C, 127, 335–343.
- GAGNON, C., VAILLANCOURT, G. and PAZDERNIK, L., 1998. Influence of Water Hardness on Accumulation and Elimination of Cadmium in Two Aquatic Mosses Under Laboratory Conditions. Arc. Environ. Contam. Toxicol., 34(1): 12-20.
- GILL, T.S. and EPPLE, A., 1993. Stress-Related Changes in Hematological Profile of the American Eel (*Anguilla rostrata*). Ecotoxicol. Environ. Safe., 25, 227- 235.
- GILL, T.S., and PANT, J.C., 1983. Cadmium Toxicity: Inducement of Changes in Blood and Tissue Metabolites in Fish. Toxicol. Lett., 18: 195-200.
- GILL, T.S. and PANT, J.C., 1985. Erythrocytic and Leukocytic Responses to Cadmium Poisoning in a Freshwater Fish, *Puntius conchoni* Ham. Environ Res 36: 327- 337.
- GILL, T.S. and PANT J.C., 1986. Chromatin Condensation in the Erythrocytes of Fish Following Exposure to Cadmium. Bull. Environ. Con. Toxicol. 36: 199–203.
- GILL, T.S., LEITNER, G., PORTA, S. and EPPLE, A., 1993. Response of Plasma Cortisol to Environmental Cadmium in the Eel *Anguilla rostrata* LESUEUR. Comp. Biochem. Physiol., Vol., 104C, No. 3, 489-495.
- GLOVER, C. N. and HOGSTRAND, C., 2002. Amino Acid Modulation of *in vivo* Intestinal Zinc Absorption in Freshwater Rainbow trout. The Journal of Experimental Biology, 205, 151–158.

- GÖKSU, M.Z.L., AKAR. M., ÇEVİK, F., and FINDIK, Ö., 2005. Bioaccumulation of Some Heavy Metals (Cd, Fe, Zn, Cu) in Two Bivalvia Species (*Pinctada radiata* Leach, 1814 and *Brachidontes pharaonis* Fischer, 1870). Turk. J. Vet. Anim. Sci. 29, 89-93.
- GÜRGÜN, V. ve HALKMAN, A.K., 1988. Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No: 7. San Matbaası, Ankara, 160 s.
- HANDY, R. D., SIMS, D. W., GILES, A., CAMPBELL, H. A. and MUSONDA, M. M., 1999. Metabolic Trade-off between Locomotion and Detoxification for Maintenance of Blood Chemistry and Growth Parameters by Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) During Chronic Dietary Exposure to Copper. Aquatic Toxicology, 47, 23-41.
- HAUX, C., and Å. LARSSON, 1984. Long-Term Sublethal Physiological Effects on Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*, during Exposure to Cadmium and After Subsequent Recovery. Aquat. Toxicol., 5: 129-142.
- HEATH, A. G., 1995. Water Pollution and Fish Physiology, CRC Press, Inc. Boca Rotan, Florida, 245.
- HILMY, A.M., EL-DOMIATY, N.A., DAABEES, A.Y. and ABDEL LATIFE, H.A., 1987. Some Physiological and Biochemical Indices of Zinc Toxicity in Two Freshwater Fishes, *Clarias lazera* and *Tilapia zilli*. Comp. Biochem. Physiol., 87(C), 297-301.
- HOFER R., WEYRER S., KOCK G. and PITTRACHER H. (1992). Heavy Metal Intoxication of Arctic Charr (*Salvelinus alpinus*) in a Remote Acid Alpine Lake. FAO/EIFAC/XVII/92/Symp. E31.
- HOLCOMBE, G.W., BENOIT, D.A. and LEONARD, E.N., 1979. Long Term Effects of Zinc Exposure on Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*). Trans Amer. Fish Soc., 108, 76 – 87.
- HOLLIS, L. K., McGEER, J.C., McDONALD, D.G. and WOOD, C.M., 2000. Effects of Long Term Sublethal Cd Exposure in Rainbow Trout during Soft Water Exposure: Implications for Biotic Ligand Modelling. Aquatic Toxicology, 51, 93–105.

- HOLLIS, L., HOGSTRAND, C. and WOOD, C. M., 2001. Tissue-Specific Cadmium Accumulation, Metallothionein Induction, and Tissue Zinc and Copper Levels During Chronic Sublethal Cd Exposure in Juvenil Rainbow Trout. *Arc. Environ. Contam. Toxicol.*, 41: 468-474.
- HOYLE, I., SHAW, B.J, HANDY, R.D., 2007. Dietary Copper Exposure in the African Walking Catfish, *Clarias gariepinus*: Transient Osmoregulatory Disturbances and Oxidative Stress. *Aquatic Toxicology*, 83, 62-72.
- HUGHES, G. M. and TORT, L., 1985. Cardio-Respiratory Responses of Rainbow Trout during Recovery from Zinc Treatment. *Environ. Pollut., Series A*, 37(3), 225-66.
- JEZIERSKA, B. and WITESKA, M., 2002. Metal Induced Changes in Structure and Function of Various Fish Organs”, *Fresenius Environmental Bulletin*, 11(2), 52-59.
- KALAY, M. ve ERDEM. C., 2003. *Tilapia nilotica*’ da Kadmiyum Birikiminin Total Protein Düzeyine Etkisi,” *Turk J. Vet. Anim. Sci.*, 27, 1367-1374.
- KARAYAKAR, F., AY, Ö., CİCİK, B. and ERDEM, C., 2005. Effects of Copper on Serum Glucose and Cortisol Levels of *Clarias lazera* (Valenciennes, 1840). *Trends in Comparative Biochem. & Physiol.*, 11, 51-54.
- KARAYTUĞ, S., ERDEM, C. and CİCİK, B., 2007. Accumulation of Cadmium in the Gill, Liver, Kidney, Spleen, Muscle and Brain Tissues of *Cyprinus carpio*. *Ekoloji*, 63(16), 16-22.
- KARGIN ve ERDEM, C., 1989. Farklı Bakır Konsantrasyonlarının *Tilapia nilotica* (L.) 1758’de Birikimi ve Mortalite Üzerine Etkileri. *Ç.Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 3 (2), 53-66.
- KARGIN, F. 1996. Effects of EDTA on Accumulation of Cadmium in *Tilapia zilli*”, *Tr. J. of Zoology*, 20(4), 419-421.
- KARGIN, F. ve ERDEM, C., 1992. Bakır- Çinko Etkileşiminde *Tilapia nilotica* (L.)’nın Karaciğer, solungaç ve Kas Dokularındaki Metal Birikimi. *Doğa-Tr. J. Zool.*, 16, 343–348.

- KARGIN, F. and ÇOĞUN, H. Y., 1999. Metal Interactions during Accumulation and Elimination of Zinc and Cadmium in Tissues of the Freshwater Fish *Tilapia nilotica*. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 63, 511-519.
- KATALAY, S., 1998. The Effects of Pollution on Blood Parameters on Marine Organism (in Turkish). Doktora tezi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Fakültesi, İzmir, Türkiye, s. 75.
- KALAY M., ERDEM C., 1995. Bakırın *Tilapia nilotica*'da Karaciğer, Böbrek, Solungaç, Kas, Beyin ve Kan Dokularındaki Birikimi ile Bazı Kan Parametreleri Üzerine Etkileri. Tr. J. Of Zoology, 19, 27-33.
- KHUNYAKARI, R. P. TARE, V. and SHARMA, R. N., 2001. Effects of SomenTrace Heavy Metals on *Poecilia reticulata* (Peters). J. Environ. Biol., 22(2), 141-144
- KONUK, T., 1981. Pratik Fizyoloji I. İkinci baskı, A. Ü. Vet. Fak. Yay. Ankara.
- LARSSON, 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.
- LAUREN, D. J. and McDONALD, D. G. 1985. Effects of Copper on Branchial Ionoregulation in the Rainbow Trout, *Salmo gairdneri* Richardson Modulation by Hardness and pH. J. Comp. Physiol., B. 155: 635-644.
- LOWE-JINDE, L., and NIIMI, A.J., 1984. Short Term and Long Term Effects of Cadmium on Glycogen Reserves and Liver Size in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri* Richardson)", Arch. Env. Contam. Toxicol., 13: 759-764.
- MAZON, A. F., MONTEIRO, E. A. S., PINHEIRO, G. H. D. and FERNANDES, M. N., 2002. Hematological and Physiological Changes Induced by Short-Term Exposure to Copper in the Freshwater Fish *Prochilodus scrofa*. Braz. J. Biol., 62(4A): 621-631,
- MONTEIRO, S. M., MANCERA, J. M., FONTAINHAS-FERNANDES, A. and SOUSA, M., 2005. Copper Induces Alterations of Biochemical Parameters in the Gill and Plasma of *Oreochromis niloticus*. Comp. Biochem. Physiol., 141C: 375-383.

- NABER, T. H., VAN DER HAMER, C. J., VAN DER BROEK, W. J. and ROELOFS, H., 1994. Zinc Exchange by Blood Cells in Nearly Physiological Standard Conditions. *Biol. Trace. Elem. Res.*, 46, 29–50.
- NGUYEN, L. T. H. and JANSSEN, C. R., 2002. Embryo-Larval Toxicity Tests with the African Catfish (*Clarias gariepinus*): Comparative Sensitivity of Endpoints. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 42, 256–262.
- OLAIFA, F.E., OLAIFA A.K. and ONWUDE, T.E., 2004. Lethal and Sub-Lethal Effects of Copper to the African Catfish (*Clarias gariepinus*) Juveniles. *African Journal of Biomedical Research*, 7, 65 -70.
- ROBERTS, R.J., 1978. *Fish Pathology*. Bailiere Tindalla Division of Ltd. Printed in Great Britain at the University Press, Aberdeen, pp.318, London.
- ROCH, M. and MALY, E.J., 1979. Relationship of Cadmium-Induced Hypocalcemia with Mortality in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) and the Influence of Temperature on Toxicity. *J. Fish Res. Bd. Can.*, 36, 1297–1303.
- ROMEO, M., YVES SIAU, ZEINABOU, S. and GNASSIA – BARELLI, M., 1999. Heavy Metal Distribution in Different Fish Species from the Mauritania Coast. *The Science of the Total Environment* 232, 169-175.
- RUPARELLA, S., GVERMA, Y., SAIYED, S.R. and RAWAL, U.M., 1990. Effect of Cadmium on Blood of Tilapia *Oreochromis mossambicus* (Peters) During Prolonged Exposure. *Environ. Contam. Toxicol.*, 45, 305-312.
- SAĞLAMTİMUR, B., CİCİK, B., ERDEM, C., 2003. Farklı Ortam Derişimleri Etkisinde Bakır, Bakır + Kadmiyum Karışımının *Oreochromis niloticus* (L.)’un Solungaç, Karaciğer, Böbrek ve Kas Dokularındaki Bakır Birikimi Üzerine Etkileri. *Turkish J. Vet. Ani. Sci.*, **27**: 813-820.
- SAĞLAMTİMUR, B., CİCİK, B. ve ERDEM, C., 2004. Kısa Süreli Bakır-Kadmiyum Etkileşiminde Tatlı su Çipurası (*Oreochromis niloticus* L. 1758)’nın Karaciğer, Böbrek, Solungaç ve Kas Dokularındaki Kadmiyum Birikimi. *Ekoloji*, 14(53), 33-38.

- SAPPAL, R., BURKA, J., DAWSON, S. and KAMUNDE, C., 2009. Bioaccumulation and Subcellular Partitioning of Zinc in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): Cross-Talk between Waterborne and Dietary Uptake. *Aquatic Toxicology*, 91, 281–290.
- SHAH, S. L. and ALTINDAĞ, A., 2004. Haematological Parameters of Tench (*Tinca tinca* L.) after Acute and Chronic Exposure to Lethal and Sublethal Mercury Treatments. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 73, 911–918.
- SOKAL, R.R. and ROHLF, J.F., 1969. *Biometry*. W.H. Freeman and Comp., San Francisco, 776 p.
- SORENSEN, E.M.B., 1991. Cadmium; Zinc. In: *Metal Poisoning in Fish*. CRC Press, Boca Raton, Fla., 119–234.
- SPEAR, P. A. 1981. *Zinc in the Aquatic Environment: Chemistry, Distribution and Toxicology*. Nat. Research Council of Canada, Publication NRCC 17589, 145 pp.
- STOSKOPF, M.K., 1993. Clinical Pathology. In: Stoskopf, M.K. (Ed.), *Fish Medicine*. Saunders, Philadelphia, pp. 113–131.
- SVOBODOVA, Z., VYKUSOVA, B., and MACHOVA, J., 1994. Sublethal Chronic Effects of Pollutants on Freshwater Fish. Ed. R. Muller ir R. Lloyd. Lugano, 39-52.
- ŞAHİN, Z. B., 2009. Bakır ve Kurşunun *Oreochromis niloticus*'da Morfolojik ve Hematolojik Parametreler ile Eritrosit Morfolojisi Üzerine Etkileri. M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 54 sayfa.
- TANESHKA, K., 2001 Effect of Zinc, Copper and Cadmium on *Oreochromis mossambicus* Free Embryos and Randomly Selected Mosquito Larvae as Biological Indicators During Acute Toxicity Testing. Ms Thesis, Rand Afrikaans University, 156p.
- TORT, L., TORRES, P. and FLOS, R., 1987. Effects on Dogfish Haematology and Liver Composition after Acute Copper Exposure. *Comp. Biochem. Physiol.*, 87(C), 349–353.

- VAN HEERDEN, D., TIEDT, L. and VOSLOO, A., 2004. Gill Damage in *Oreochromis mossambicus* and *Tilapia sparrmanii* after Short-Term Copper Exposure. International Congress Series 1275, 195–200.
- VOSYLIENĖ, M.Z. 1996. The Effect of Long-Term Exposure to Copper on Physiological Parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). 2. Studies of Haematological Parameters. Ekologija 1, 3-6.
- VOSYLIENE M. Z., Kazlauskienė N. 1999. Alterations in Fish Health State Parameters After Exposure to Different Stressors. Acta Zoologica Lituanica. Vol. 2. P. 83–95.
- VOSYLIENE, M. Z. and JANKAITE, A., 2006. Effect of Heavy Metal Model Mixture on Rainbow Trout Biological Parameters. Ekologija, 4, 12–17.
- WATANABE, T., KIRON, V. and SATOH, S., 1997. Trace Minerals in Fish Nutrition. Aquaculture, 151, 185–207.
- WITESKA, M., 1998. Changes in selected blood indices of common carp after acute exposure to cadmium. Acta Vet. Brno., 67, 289-293.
- WITESKA, M., 2001. Changes in the Common Carp Blood Cell Picture After Acute Exposure to Cadmium. Acta. Zool. Litvanica, 11, 366-371.
- WITESKA M., 2003. The Effects of Metals (Pb, Cu, Cd, and Zn) on Hematological Parameters and Blood Cell Morphology of Common Carp. Rozprawa naukowa nr 72, Wydawnictwo Akademii Podlaskiej Siedlce, 113 p.
- WITESKA, M., 2004. The Effect of Toxic Chemicals on Blood Cell Morphology in Fish”, Fresenius Environmental Bulletin, 13(12a), 1379-1384.
- WITESKA, M., 2005. Stress in Fish Hematological and Immunological Effects of Heavy Metals. Electronic Journal of Ichthyology, 1, 35-41
- WITESKA, M. VE BAKA, I., 2002. The Effect of Long-Term Cadmium Exposure on Common Carp Blood. Fresenius Environm. Bulletin, 11(12A), 1059-1065.
- WITESKA, M. and JIEZERSKA, B., 1994. The Effect of Cadmium and Lead on Selected Blood Parameters of Common carp. Arch. Ryb. Pol. 2(1): 123-132.

- WITESKA, M. and JEZIERSKA, B., 2003. The Effects of Environmental Factors on Metal Toxicity to Fish (Review). *Fresenius Environmental Science*, 12(8), 824- 829.
- WONG, C.K.C. and WONG, M.H., 2000. Morphological and Biochemical Changes in the Gills of Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to Ambient Cadmium Exposure. *Aquatic Toxicology*, 48, 517–527.
- YAMAWAKI, K., HASHIMOTO, W., FUJII, K., KOYAMA, J., IKEDA, Y., and OZAKI, H., 1986. Hemochemical Changes in Carp Exposed to Low Cadmium Concentrations. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 52 (3), 459-46

ÖZGEÇMİŞ

21/07/1985 yılında Adana'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Adana'da tamamladı. 2003 yılında başladığı Niğde Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nden 2007 yılında mezun oldu ve aynı yıl Çukurova Üniversitesi, Yabancı Diller Merkezinde (YADİM) bir yıl Lisansüstü dil eğitimi aldıktan sonra Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümünde Yüksek Lisans Tez çalışmalarına başladı.