

**T.C.  
ISPARTA UYGULAMALI BİLİMLER ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA TEZİ  
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANABİLİM DALI**

**FARKLI KONSANTRASYONLARDA KADMİYUM VE BAKIR  
İYONLARINA MARUZ BIRAKILAN SARIAĞIZ BALIĞININ  
(*Argyrosomus regius*) BAZI DOKULARINDAKİ ANTİOKSİDANT  
ENZİM AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

**Faruk PAK**

**Danışman  
Doç. Dr. Mehmet Rüştü ÖZEN**

**ISPARTA - 2019**



© 2019 [Faruk PAK]

TEZ ONAYI

**FARKLI KONSANTRASYONLARDA KADMİYUM VE BAKIR İYONLARINA MARUZ BIRAKILAN SARIAĞIZ BALIĞININ (*Argyrosomus regius*) BAZI DOKULARINDAKİ ANTİOKSİDANT ENZİM AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

**Faruk PAK** tarafından hazırlanan bu tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Başkan** **Prof. Dr. Osman ÇETİNKAYA**  
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi

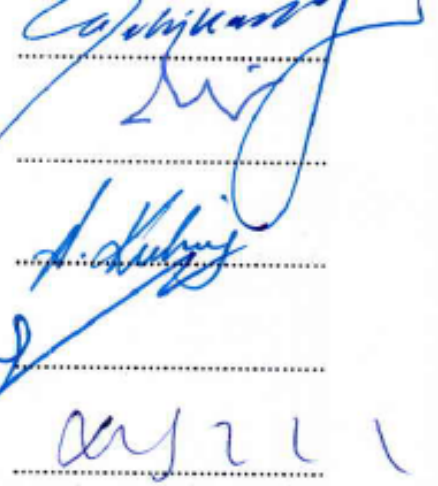
**Üye** **Doç. Dr. Mehmet Rüştü ÖZEN**  
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi

**Üye** **Prof. Dr. Ayşegül KUBİLAY**  
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi

**Üye** **Prof. Dr. Yılmaz EMRE**  
Akdeniz Üniversitesi

**Üye** **Prof. Dr. Kazım UYSAL**  
Dumlupınar Üniversitesi

İmza



Yukarıdaki Jüri kararı Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../... tarih ve ...../..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

**Prof. Dr. Yusuf UÇAR**  
Enstitü Müdürü

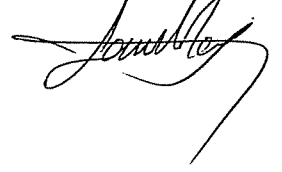
## ETİK BEYANI

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak ve bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın hazırladığım bu tez çalışmasında;

Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, tezime ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

14/06/2019

**Faruk PAK**



## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER .....	i
ABSTRACT .....	v
TEŞEKKÜR .....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xi
1. GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	5
2.1. Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres .....	5
2.2. Metal Kaynaklı Oksidatif Hasar .....	7
2.2.1. Bakır (Cu) .....	8
2.2.2. Kadmiyum (Cd) .....	9
2.3. Antioksidan Savunma Sistemleri .....	10
2.4. Çalışmada Kullanılan Biyokimyasal Parametreler .....	11
2.4.1. Süperoksit dismutaz (SOD) .....	11
2.4.2. Katalaz (CAT) .....	12
2.4.3. Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz .....	12
2.4.4. Glutamat piruvat transaminaz (GPT) .....	13
2.4.5. Malondialdehit (MDA) .....	14
2.5. <i>Argyrosomus regius</i> 'un Dağılım Alanları ve Genel Özellikleri .....	14
2.6. Balıklarda Bakır ve Kadmiyumla İlgili Yapılan Çalışmalar .....	16
2.6.1. Balıklarda bakır ve kadmiyum toksisitesi .....	16
2.6.2. Dokularda bakır ve kadmiyum birikimi .....	19
2.6.3. Bakır ve kadmiyumun antioksidan enzimlere etkileri .....	25
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	35
3.1. Yararlanılan Alet ve Cihazlar .....	35
3.2. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması: .....	35
3.3. Toksikite Denemeleri .....	38
3.3.1. Akut toksisite denemeleri .....	39
3.3.2. Kronik toksisite denemeleri .....	40
3.4. Amonyum ve Nitrit Analizleri .....	41
3.5. Bakır ve Kadmiyum Analizleri .....	42
3.5.1. Su numunelerinde bakır ve kadmiyum analizleri .....	42
3.5.2. Doku örneklerinde bakır ve kadmiyum analizleri .....	42
3.6. Enzim Aktivite Tayin Yöntemleri .....	42
3.6.1. Homojenat hazırlanması .....	42
3.6.2. Protein tayini .....	42
3.6.3. Katalaz (CAT) aktivitesi tayin yöntemi .....	43
3.6.4. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi tayin yöntemi .....	44
3.6.5. Glutamat piruvat transaminaz (GPT) aktivitesi tayin yöntemi .....	45
3.6.6. Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) aktivitesi tayin yöntemi .....	47
3.6.7. Malondialdehit (MDA) Analizi .....	48
3.7. İstatistiksel Analizler .....	49
4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....	51
4.1. Akut Toksikite Denemeleri .....	51
4.2. Akut Bakır Toksikite Testi Bulguları .....	51
4.3. Akut Kadmiyum Toksikite Testi Bulguları .....	55
4.4. Kronik Toksikite Denemeleri .....	59
4.5. Dokulardaki Metal Birikimleri .....	62

4.6. Metallerin Antioksidan Enzim Aktivitelerine Etkileri .....	63
4.6.1. Bakırın dokularda katalaz enzim aktivitesine etkisi.....	63
4.6.2. Kadmiyumun dokulardaki katalaz enzim aktivitesine etkisi .....	65
4.6.3. Bakırın dokulardaki superoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesine etkisi .....	67
4.6.4. Kadmiyumun dokulardaki superoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesine etkisi.....	69
4.6.5. Bakırın dokulardaki glukoz 6 fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzim aktivitesine etkisi.....	71
4.6.6. Kadmiyumun dokulardaki glukoz 6 fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzim aktivitesine etkisi.....	73
4.6.7. Bakırın dokulardaki glutamat piruvat transaminaz (GPT) enzim aktivitesine etkisi.....	75
4.6.8. Kadmiyumun dokulardaki glutamat piruvat transaminaz (GPT) enzim aktivitesine etkisi.....	77
4.7. Bakır ve Kadmiyumun Dokulardaki Lipid peroksidasyonu (LPO) Üzerindeki Etkileri.....	79
4.7.1. Bakırın dokulardaki malondialdehit (MDA) düzeylerine etkisi .....	80
4.7.2. Kadmiyumun dokulardaki malondialdehit (MDA) düzeylerine etkisi .....	82
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR .....	84
5.1. <i>Argyrosomus regius</i> 'da Akut Bakır Toksisitesi .....	85
5.2. <i>A. regius</i> 'da Akut Kadmiyum Toksisitesi .....	89
5.3. Kronik Subletal Cu Konsantrasyonlarına Maruz Bırakılan <i>A. regius</i> Dokularındaki Cu Birikimi .....	91
5.4. Kronik Subletal Cd Konsantrasyonlarına Maruz Bırakılan <i>A. regius</i> Dokularındaki Cd Birikimi .....	93
5.5. Subletal Bakır ve Kadmiyuma Maruz Bırakılan <i>A. regius</i> 'un Dokularındaki Antioksidan Enzim Aktivitelerinin İncelenmesi.....	96
5.5.1. Bakır ve kadmiyumun dokulardaki superoksit dismutaz (SOD) enzimi üzerindeki etkileri.....	96
5.5.2. Bakır ve kadmiyumun dokulardaki katalaz (CAT) enzimi üzerindeki etkileri .....	99
5.5.3. Bakır ve kadmiyumun dokulardaki glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzimi üzerindeki etkileri .....	101
5.5.4. Bakır ve kadmiyumun dokulardaki glutamat piruvat transaminaz (GPT) enzimi üzerindeki etkileri .....	103
5.5.5. Bakır ve kadmiyumun dokulardaki lipid peroksidasyonu (LPO) üzerindeki etkileri.....	104
5.6. Sonuç.....	106
KAYNAKLAR .....	108
ÖZGEÇMİŞ .....	128

## ÖZET

Doktora Tezi

# FARKLI KONSANTRASYONLARDA KADMIYUM VE BAKIR İYONLARINA MARUZ BIRAKILAN SARIAĞIZ BALIĞININ (*Argyrosomus regius*) BAZI DOKULARINDAKİ ANTİOKSİDANT ENZİM AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Faruk PAK

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi  
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü  
Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mehmet Rüştü ÖZEN

Çevre kirliliğinin bir göstergesi olarak; özellikle yumuşakçalar ve balıklar gibi canlılarda ölçülen metalik kirleticiler, yaşadıkları ortamda bulunan konsantrasyonlarına bağlı olarak belirli, hatta tehlikeli düzeylere erişebilmektedir. Sucul organizmalarda ağır metal birikimi ve bunun söz konusu canlılarda oluşturduğu tahribat ile hasarların araştırılması, bir taraftan ağır metallerle karşı duyarlılığı yüksek olan türlerin belirlenmesini sağlarken, diğer taraftan da anılan canlıların vücut mekanizmalarındaki işleyişlerdeki parametrelerde oluşabilecek reaksiyonların saptanması noktasında oldukça önemlidir. Bakır (Cu), metabolik enzimlerin temel bir bileşeni olduğu için canlı organizmalarda hücre metabolizma için temel bir eser element ve mikro besindir. Bununla birlikte, suda yaşayan hayvanlarda normal seviyelerden yüksek konsantrasyonlarda hücre içi mekanizmalar için toksik olabilmektedir. Kadmiyum (Cd) doğada mevcut, düşük konsantrasyonlarda dahi organizmaları etkileyecek derecede toksik, parçalanamayan, uzun biyolojik yarı ömrü nedeniyle sucul canlılar için atılımı neredeyse imkansız olan ve bu nedenle vücutta çeşitli organlarda birikme eğiliminden dolayı çevresel kaygıları artıran bir elementtir. Sariağız, *Argyrosomus regius*, Akdeniz kıyılarında yetiştiriciliği yapılan alternatif bir türdür. İz metaller de dahil olmak üzere *A. regius*'daki biyokimyasal parametreler diyetten ve deniz suyunun çevresel parametrelerinden etkilenebilmekte ve balık sağlığı ve et kalitesi kısmen deniz suyunun bileşimine bağlı olarak değişebilmektedir. Bu çalışmada, kadmiyum ve bakır iyonlarının *A. regius* üzerindeki akut toksisitesi belirlenmiştir. İlaveten bu metallerin subletal konsantrasyonlarına kronik olarak maruz bırakılan *A. regius*'un kas, karaciğer ve solungaç dokularındaki metal birikimi ile bireylerin biyokimyasal aktivitelerindeki değişiklikleri izlemek için süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glukoz 6 fosfat dehidrogenaz (G6PD) ve glutamat piruvat transaminaz (GPT) enzim aktiviteleri ve ayrıca lipid peroksidasyonunun göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeyleri belirlenmiştir.

Sariağız balıklarında bakır ve kadmiyumun 96 saatlik akut toksisite testleri statik deney koşullarında yapıldı ve LC<sub>50</sub> probitanaliz metodu ile belirlendi. 96 saatlik LC<sub>50</sub> değerleri bakır için 1,643 mg/L ve kadmiyum için 6,699 mg/L olarak tespit edildi. *A. regius* için

bakırın kadmiyumdan yaklaşık 4 kat daha toksik olduğu belirlendi. Subletal konsantrasyonlarda 30 gün süre ile bakır ve kadmiyuma maruz bırakılan balıkların kas, karaciğer ve solungaç dokularındaki metal birikiminin her iki metal için de en fazla karaciğerde, takiben solungaçta ve en az da kas dokusunda olduğu belirlendi.

Bu çalışmada bakır ve kadmiyum uygulamaları *A. regius* dokularında oksidatif stres biyobelirteçlerinde bazı değişiklikler meydana getirmiştir. *A. regius*'da belirli bir sürede dokularda SOD ve CAT enzim aktiviteleri üzerine bakır ve kadmiyum etkileri akut ve kronik olarak değerlendirildi. Hem 4. Günde hemde 30. günde artan metal konsantrasyonu ile kas ve solungaç dokusunda her iki enzim aktivitesinin arttığı karaciğerde ise azaldığı tespit edildi. Her iki metal de G6PD enzim aktivitesinin karaciğer dokusunda azalmasına, solungaç ve kas dokularında ise artmasına neden oldu. *A. regius*'da incelenen tüm dokularda artan bakır ortam konsantrasyonu ile GPT enzim aktivitesinin artış gösterdiği, artan kadmiyum ortam konsantrasyonu ile GPT enzim aktivitesinin kas ve solungaç dokusunda artış gösterdiği, karaciğer dokusunda ise azaldığı belirlendi. *A. regius*'un değişik konsantrasyonlarda bakır ve kadmiyuma maruz bırakılması, kontrol ile karşılaştırıldığında kas, solungaç ve karaciğerde tüm süre boyunca LPO'nun artmasına neden oldu. Ayrıca, en yüksek MDA düzeyindeki artış karaciğerde (% 68), ardından solungaçta (% 37) ve en düşük kas dokusunda (%6) gerçekleşti. İncelenen tüm dokularda meydana gelen lipid peroksidasyonunun konsantrasyona ve süreye bağlı olduğu tespit edildi.

Bu çalışma, bakır ve kadmiyumun, balık dokularındaki MDA düzeylerinde belirlenen artışla gösterildiği gibi, oksidatif stresten sorumlu olduğunu ve buna karşılık olarak antioksidan savunma mekanizmalarını etkilediğini ortaya koymuştur. *A. regius*'un bakır ve kadmiyuma maruz bırakılmasının lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzimler üzerindeki etkisinin, doku, konsantrasyon ve zamana bağlı olduğu bulunmuştur. Bu etkilere, dokuların, işlev, antioksidan kapasiteleri, oksidatif hasara yatkınlık ve serbest radikal oluşturma hızlarındaki farklılıklar sebep olmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** *Argyrosomus regius*, Bakır, Kadmiyum, Toksikite, Antioksidan enzim aktivitesi, Lipid peroksidasyonu.

**2019, 132 sayfa**



## **ABSTRACT**

**Ph.D.Thesis**

### **INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITY IN SOME TISSUES OF MEAGRE (*Argyrosomus regius*) EXPOSED TO CADMIUM AND COPPER IONS IN DIFFERENT CONCENTRATIONS**

**Faruk PAK**

**Isparta University of Applied Sciences  
The Institute of Graduate Education  
Department of Aquaculture**

**Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mehmet Rüstü ÖZEN**

As an indicator of environmental pollution; metallic pollutants, especially measured in living things such as mollusks and fish, can reach certain, even dangerous levels, depending on their concentration in the environment. Accumulation of heavy metals in aquatic organisms and the destruction of these organisms and the investigation of damages are very important for determining the species that are sensitive to heavy metals on the one hand and determining the reactions that may occur in the functioning mechanisms of the organisms in the body. Since copper (Cu) is an essential component of metabolic enzymes, it is an essential trace element and micronutrient for cellular metabolism in living organisms. However, it may be toxic to intracellular mechanisms at concentrations higher than normal levels in aquatic animals. Cadmium (Cd) is an element that is present in nature, toxic enough to affect organisms even at low concentrations, which is almost impossible to be excreted for aquatic organisms due to its long biological half-life and therefore increases environmental concerns due to its tendency to accumulate in various organs in the body. Meagre, *Argyrosomus regius*, is an alternative species cultivated on the Mediterranean coast. Biochemical parameters in *A. regius*, including trace metals, can be influenced by diet and environmental parameters of seawater, and fish health and meat quality may vary partly depending on the composition of seawater. In this study, acute toxicity of cadmium and copper ions on *A. regius* was determined. In addition, by the accumulation of metal in the muscle, liver and gill tissues of *A. regius*, which is chronically exposed to sublethal concentrations of these metals, superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glucose 6 phosphate dehydrogenase (G6PD) and glutamate pyruvate transaminase (GPT) enzyme activities and also malondialdehyde (MDA) levels which are indicative of lipid peroxidation were determined.

Acute toxicity tests of copper and cadmium in meagre fish were performed under static experimental conditions and determined by LC<sub>50</sub> probit analysis method. The LC<sub>50</sub> values for 96 hours were 1.643 mg/L for copper and 6.699 mg/L for cadmium. It was determined that copper was approximately 4 times more toxic for *A. regius* than cadmium. The accumulation of metal in the muscle, liver and gill tissues of the fish

exposed to copper and cadmium at sublethal concentrations for 30 days was found to be mostly in the liver, followed by the gill and at least in the muscle tissue.

In this study, Cd and Cu exposures caused some changes in oxidative stress biomarkers in *A. regius* tissues. The effects of Cd and Cu on the SOD and CAT enzyme activities in tissues were determined to be acute and chronic in *A. regius* at a certain time period. It was determined that both enzyme activities increased in the muscle and the gill tissues and decreased in the liver with the increasing metal concentration on day 4 and day 30. Both metals decreased G6PD enzyme activity in liver tissue and increased in gill and muscle tissues. It was determined while GPT enzyme activity increased with increasing Cu media concentration in all tissues of *A. regius*, GPT enzyme activity increased within the muscle and the gill tissue and decreased in liver tissue with increasing cadmium ambient concentration. Compared to the control group, the exposure of *A. regius* to copper and cadmium at different concentrations resulted in the increase of LPO for the whole period for all of the muscle, gill, and liver. In addition, the highest MDA levels occurred in liver (68%), followed in the gills (37%), and the lowest in the muscle tissue (6%). The peroxidative damage that occurred in all tissues examined depended on the concentration and the duration.

This study showed that Cu and Cd were responsible for oxidative stress as indicated by the increase in lipid peroxidation of fish tissue and the antioxidant defense mechanisms were also affected. The effect of exposure of *A. regius* to copper and cadmium on lipid peroxidation and antioxidant enzymes was found to be dependent on tissue, concentration and time. These effects were caused by differences in tissues' function, antioxidant capacity, susceptibility to oxidative damage and free radical formation rates.

**Key Words:** *Argyrosomus regius*, Copper, Cadmium, Toxicity, Antioxidant Enzyme Activity, Lipid peroxidation.

**2019, 132 pages**

## TEŞEKKÜR

Bu araştırma için beni yönlendiren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan değerli Danışman Hocam Doç. Dr. Mehmet Rüştü ÖZEN'e teşekkürlerimi sunarım. Kıymetli desteklerini esirgemeyen ve bana yol gösterici olan hocalarım Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Osman ÇETİNKAYA ve Prof. Dr. Ayşegül KUBİLAY'a teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan ve beni sürekli motive ederek her türlü yardımlarını gördüğüm Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Yılmaz EMRE'ye minnet ve şükranlarımı sunarım. Ayrıca yardımlarını gördüğüm Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ferit KARGIN'a ve Dr. Mustafa KAVASOĞLU'na teşekkür ederim.

Tez çalışmasında kullanılan balıkların temininde gösterdikleri nezaket, anlayış ve yardımlarından dolayı Kılıç Holding Yönetimi'ne teşekkür ederim.

Kurum imkanlarını kullandığım Akdeniz Su Ürünleri Araştırma Üretim ve Eğitim Enstitüsü Müdürlüğü'ne teşekkür ederim. Ayrıca çalışmalarımda katkısını gördüğüm ve benim gerçekten yanımda olan oda arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında beni yalnız bırakmayan değerli aileme sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Faruk PAK  
ISPARTA, 2019

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Organizmalardaki oksijen metabolizması ve reaktif oksijen türleri arasındaki dönüşüm (Akbulut vd., 2014).....	5
Şekil 2.2. GPT katalizörlüğünde L-alanin'in amino grubu, alfa-ketoglutarik asite aktarılması ile glutamik asit, ve piruvik asitin oluşması tepkimesi .....	14
Şekil 2.3. <i>Argyrosomus regius</i> (Asso,1801)'un dağılım alanları .....	15
Şekil 2.4. <i>Argyrosomus regius</i> (Asso,1801) .....	15
Şekil 3.1. Toksikite denemelerine ait bazı resimler.....	38
Şekil 3.2. Akut toksisite deneme düzeneği .....	39
Şekil 3.3. Kronik toksisite deneme düzeneği .....	40
Şekil 3.4. Protein standart grafiği.....	43
Şekil 3.5. GPT standart eğrisi. ....	46
Şekil 3.6. MDA standart grafiği.....	49
Şekil 4.1. Sariağız balığının ( <i>A. regius</i> ) kas, solungaç ve karaciğer dokularında bakır ortam konsantrasyonlarının CAT enzim aktivitesi üzerine etkisi. ....	65
Şekil 4.2. Sariağız balığının ( <i>A. Regius</i> ) kas, solungaç ve karaciğer dokularında kadmiyum ortam konsantrasyonlarının CAT enzim aktivitesi üzerine etkisi. ....	67
Şekil 4.3. Sariağız balığının ( <i>A. regius</i> ) kas, solungaç ve karaciğer dokularında bakır ortam konsantrasyonlarının SOD enzim aktivitesi üzerine etkisi. ....	69
Şekil 4.4. Sariağız balığının ( <i>A. regius</i> ) kas, solungaç ve karaciğer dokularında kadmiyum ortam konsantrasyonlarının SOD enzim aktivitesi üzerine etkisi. ....	71
Şekil 4.5. Sariağız balığının ( <i>A. regius</i> ) kas, solungaç ve karaciğer dokularında bakır ortam konsantrasyonlarının G6PD enzim aktivitesi üzerine etkisi. ....	73
Şekil 4.6. Sariağız balığının ( <i>A. regius</i> ) kas, solungaç ve karaciğer dokularında kadmiyum ortam konsantrasyonlarının G6PD enzim aktivitesi üzerine etkisi. ....	75
Şekil 4.7. Sariağız balığının ( <i>A. regius</i> ) kas, solungaç ve karaciğer dokularında bakır ortam konsantrasyonlarının GPT enzim aktivitesi üzerine etkisi. ....	77
Şekil 4.8. Sariağız balığının ( <i>A. regius</i> ) kas, solungaç ve karaciğer dokularında kadmiyum ortam konsantrasyonlarının GPT enzim aktivitesi üzerine etkisi. ....	79
Şekil 4.9. Sariağız balığının ( <i>A. regius</i> ) kas, solungaç ve karaciğer dokularında bakır ortam konsantrasyonlarının MDA düzeyleri üzerine etkisi. ....	81
Şekil 4.10. Sariağız balığının ( <i>A. regius</i> ) kas, solungaç ve karaciğer dokularında kadmiyum ortam konsantrasyonlarının MDA düzeyleri üzerine etkisi.....	83

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 3.1. Kronik toksisite testlerinde kullanılan oranlar ve konsantrasyonlar.....	41
Çizelge 3.2. Katalaz (CAT) aktivitesi ölçme yöntemi .....	44
Çizelge 3.3. 50 µL'lik numune hacmi göz önünde bulundurularak hazırlanmış SOD aktivitesi ölçüm prosedürü .....	45
Çizelge 3.4. GPT standart eğrisinin hazırlanması.....	46
Çizelge 3.5. GPT aktivite tayini yöntemi.....	47
Çizelge 3.6. G6PD aktivite tayini yöntemi .....	47
Çizelge 3.7. MDA analizinin yapılış şeması.....	49
Çizelge 4.1. Akut toksisite denemelerinin gerçekleştirildiği su kalitesi ve fotoperiyot şartları .....	51
Çizelge 4.2. Akut bakır toksisite testi 24, 48, 72 ve 96 saatlik ölüm oranları .....	52
Çizelge 4.3. Akut bakır toksisite denemelerindeki bazı değişkenler .....	54
Çizelge 4.4. Akut bakır toksisite testinde farklı süreler için belirlenen LC <sub>50</sub> değerleri ve % 95 lik güven sınırları .....	54
Çizelge 4.5. Deneme süresince akvaryumlardaki bakır iyonu konsantrasyon (mg Cu/L) değişimi (X±SD) .....	55
Çizelge 4.6. Deneme süresince bakır ilaveli akvaryumlardaki pH değişimi .....	55
Çizelge 4.7. Akut kadmiyum toksisite denemelerindeki ilk ölüm zamanları ve etkili konsantrasyonlar .....	56
Çizelge 4.8. Akut kadmiyum toksisite testi 24, 48, 72 ve 96 saatlik ölüm oranları .....	57
Çizelge 4.9. Akut kadmiyum toksisite testinde belirlenen LC <sub>50</sub> değerleri ve %95'lik güven sınırları.....	58
Çizelge 4.10. Deneme süresince kadmiyum ilaveli akvaryumlardaki pH değişimi .....	58
Çizelge 4.11. Deneme süresince akvaryumlardaki kadmiyum iyonu konsantrasyon (mg Cd/L) değişimi (X±SD).....	59
Çizelge 4.12. Kronik toksisite denemelerinin gerçekleştirildiği su kalitesi ve fotoperiyot şartları.....	59
Çizelge 4.13. Kronik bakır toksisitesi biyodeney tanklarındaki bakır iyonu konsantrasyonundaki (mg/L Cu) değişimi (X±SD).....	60
Çizelge 4.14. Kronik kadmiyum toksisitesi biyodeney tanklarındaki kadmiyum iyonu konsantrasyonu (mg/L Cd) değişimi (X±SD).....	60
Çizelge 4.15. Kronik subletal toksisite biyodeney tanklarındaki amonyum azot konsantrasyonlarının (mg NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N/L) zamansal değişimi (X±SD).....	61
Çizelge 4.16. Kronik subletal toksisite biyodeney tanklarındaki nitrit azot konsantrasyonlarının (mg NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N /L) zamansal değişimi (X±SD).....	61
Çizelge 4.17. Farklı bakır ortam konsantrasyonlarına 30 gün süreyle bırakılan <i>A. regius</i> 'un kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki bakır birikimi (µg Cu/g yaş ağırlık) .....	62
Çizelge 4.18. Farklı kadmiyum ortam konsantrasyonlarına 30 gün süreyle bırakılan <i>A. regius</i> 'un kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki kadmiyum birikimi (µg Cd/g yaş ağırlık) .....	63

Çizelge 4.19. Farklı bakır ortam konsantrasyonlarının etkisinde sarıağız balığının ( <i>A. regius</i> ) kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki bakır birikiminin CAT enzim aktivitesi (U/mg protein) üzerine süreye bağlı etkisi .....	64
Çizelge 4.20. Farklı kadmiyum ortam konsantrasyonlarının etkisinde sarıağız balığının ( <i>A. regius</i> ) kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki kadmiyum birikiminin CAT enzim aktivitesi (U/mg protein) üzerine süreye bağlı etkisi.....	66
Çizelge 4.21. Farklı bakır ortam konsantrasyonlarının etkisinde sarıağız balığının ( <i>A. regius</i> ) kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki bakır birikiminin SOD enzim aktivitesi (U/mg protein) üzerine süreye bağlı etkisi. ....	68
Çizelge 4.22. Farklı kadmiyum ortam konsantrasyonlarının etkisinde sarıağız balığının ( <i>A. regius</i> ) kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki bakır birikiminin SOD enzim aktivitesi (U/mg protein) üzerine süreye bağlı etkisi (EU). ....	70
Çizelge 4.23. Farklı bakır ortam konsantrasyonlarının etkisinde sarıağız balığının ( <i>A. regius</i> ) kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki bakır birikiminin G6PD enzim aktivitesi (U/mg protein) üzerine süreye bağlı etkisi. ....	72
Çizelge 4.24. Farklı kadmiyum ortam konsantrasyonlarının etkisinde sarıağız balığının ( <i>A. regius</i> ) kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki bakır birikiminin G6PD enzim aktivitesi (U/mg protein) üzerine süreye bağlı etkisi. ....	74
Çizelge 4.25. Farklı bakır ortam konsantrasyonlarının etkisinde sarıağız balığının ( <i>A. regius</i> ) kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki bakır birikiminin GPT enzim aktivitesi üzerine (U/mg protein) süreye bağlı etkisi. ....	76
Çizelge 4.26. Farklı kadmiyum ortam konsantrasyonlarının etkisinde sarıağız balığının ( <i>A. regius</i> ) kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki bakır birikiminin GPT enzim aktivitesi (U/mg protein) üzerine süreye bağlı etkisi. ....	78
Çizelge 4.27. Farklı bakır ortam konsantrasyonlarının etkisinde sarıağız balığının ( <i>A. regius</i> ) kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki bakır birikiminin MDA düzeyleri üzerine süreye bağlı etkisi. ....	80
Çizelge 4.28. Farklı kadmiyum ortam konsantrasyonlarının etkisinde sarıağız balığının ( <i>A. regius</i> ) kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki bakır birikiminin MDA düzeyleri üzerine süreye bağlı etkisi. ....	82
Çizelge 5.1. <i>Sparus sarba</i> için elde edilmiş bakır LC <sub>50</sub> değerleri.....	86
Çizelge 5.2. <i>Sparus aurata</i> ve <i>Pagrus major</i> embriyo ve larvaları için elde edilmiş bakır LC <sub>50</sub> değerleri.....	86
Çizelge 5.3. Farklı balık türleri için bakır LC <sub>50</sub> değerleri .....	87

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AChE	Asetilkolin esteraz
As	Arsenik
BSA	Standart sığır albumin
Ca	Kalsiyum
CaCO <sub>3</sub>	Kalsiyum karbonat
CAT	Katalaz
Cd	Kadmiyum
CdCl <sub>2</sub>	Kadmiyum klorür
CdCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	Kadmiyum klorür mono hidrat
CK	Kreatin fosfokinaz
Co	Kobalt
Cr	Krom
Cu	Bakır
CuSO <sub>4</sub>	Bakır sülfat
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	Bakır sülfat penta hidrat
ER	Endoplazmik retikulum
EU	Enzim ünitesi
Fe	Demir
GOT	Glutamat oksaloasetat transaminaz
GPT	Glutamat piruvat transaminaz
GPx	Glutatyon peroksidaz
GSH	Glutatyon
G6PD	Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz
GST	Glutatyon S-transferaz
GR	Glutatyon reduktaz
HCl	Hidroklorik asit
Hg	Civa
H <sub>2</sub> O	Su
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit
K	Potasyum
KCl	Potasyum klorür
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Dipotasyum hidrojen fosfat
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Potasyum dihidrojen fosfat
LC <sub>50</sub>	Ortanca öldürücü konsantrasyon
LDH	Laktat dehidrogenaz
LPO	Lipit peroksidasyon
LSI	Karaciğer somatik indeksi
MATC	Maksimum kabul edilebilir kirletici konsantrasyonu
MDA	Malondialdehit
MgCl	Magnezyum klorür
Mo	Molibden
Mn	Mangan
MT	Metalotiyonin
Na	Sodyum
NaOH	Sodyum hidroksit
ng	nano gram
Ni	Nikel
NO	Nitrik oksit

OH <sup>-</sup>	Hidroksil anyonu
OH <sup>·</sup>	Hidroksil radikali
O <sub>2</sub> <sup>·-</sup>	Superoksit radikali
O <sub>2</sub>	Oksijen
OH-MWCNT	Hidroksillenmiş çok duyarlı karbon nanotüpler
Pb	Kurşun
PC	Protein karbonilasyon
ppt	binde tuzluluk
ROT	Reaktif oksijen türleri
Se	Selenyum
Se-GPx	Selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz
Sn	Kalay
SOD	Superoksit dismutaz
TBA	Tiyobarbiturik asit
TCA	Trikloroasetik asit
Zn	Çinko
2,4-DNPH	2,4-dinitro fenil hidrazin
6-OHDA	6-Hidroksi dopamin
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Singlet oksijen
t	Süre
€	Işık yolu
ε	Molar absorpsiyon katsayısı
Δ	Fark



## 1. GİRİŞ

Nüfusun ve buna bağılı olarak beslenme sorunlarının hızla arttığı dünyamızda, zengin protein kaynakları olan su ürünlerinin önemi giderek artmaktadır. Bu bağlamda, su ürünleri stokları korunarak sürdürülebilirliğinin sağlanması, yetiştiricilik yoluyla elde edilen su ürünleri üretiminin arttırılması ve dolayısıyla protein ihtiyacının önemli bir kısmının su ürünlerinden karşılanması gerekliliği ortaya çıkmaya başlamıştır.

Türkiye denizleri ve iç suları birbirlerinden farklı ekolojik özellikleri sebebiyle, biyoçeşitliliğin yüksek olmasını sağlamaktadır. Ülke sularında denizlerde 512, tatlısularda ise 371 tür balık bulunmaktadır (Bilecenoğlu vd., 2014; Kuru vd., 2014). Türkiye'nin su ürünleri üretimi dünya su ürünleri üretiminin % 0,3'ünü oluşturmaktadır. Türkiye'de en fazla yetiştiriciliği yapılan üç tür; tatlı su balıklarından gökkuşuğu alabalığı ve deniz balıklarından levrek ile çipuradır. Bunlara ilaveten fangri, minekop, granyöz (sarıağız), sinagrit, sivriburun karagöz ve trança gibi deniz balıklarının alternatif olarak yetiştiriciliği yapılmaktadır.

Akdeniz'e özgü deniz balıkları üretiminin en önemli iki türü olan çipura ve levreğin son yıllarda üretim protokollerinin başarı ile uygulanması sonucu üretim ve satış miktarları artmıştır. Bununla birlikte bu iki tür için yaşanan pazar doygunluğunun aşılabilmesi için alternatif deniz balıkları üretimi arayışlarının başlanması zorunlu bir hale gelmiştir. Son yıllarda denizel türlerimizden biri olan ve granyöz olarak da bilinen sarıağız balığı (*Argyrosomus regius*, Asso, 1801)'nin yetiştiriciliği bazı firmalarca yapılmaktadır. Sarıağız balığı ticari değeri yüksek deniz balıklarındandır. Son yıllardaki akuakültür çalışmalarında bu türün yetiştiriciliğine ilişkin çalışmalarda da artış görülmüştür. Ülkemizde 2016 yılında 2463 ton granyöz balığı üretilmiş olup, bu deniz balıkları yetiştiriciliğinde % 1,62' lik bir orana karşılık gelmektedir.

Sarıağız, *Argyrosomus regius*, Akdeniz kıyılarında yaygın olarak yetiştirilmeye başlanmış alternatif bir türdür. Bu nedenle, sarıağızdaki daha fazla üretim; insan beslenmesi için önemli olan daha fazla protein ve yağ asitleri kaynağı anlamına gelecektir. Bunun yanısıra iz metaller de dahil olmak üzere balıklardaki biyokimyasal parametreler, beslenme ve deniz suyunun çevresel parametrelerinden etkilenebilir (Serra vd.,1996; Carpena vd., 1999) Böylece balık sağlığı ve et kalitesi kısmen deniz

suyunun temel bileşimine bağlı olarak değişir. Metal kirliliği, endüstriyel faaliyetlerin sucul çevre üzerindeki en tehlikeli sonuçlarından biridir. Kalıcı yapıları ve yavaş elimine olmaları nedeniyle, kadmiyum (Cd), çinko (Zn) ve bakır (Cu) gibi metaller en büyük ve en yaygın mikro kirletici grupları arasındadır (Knappen vd., 2004; Minghetti vd., 2008). Deniz ortamına bağlı olarak, Akdeniz'deki Cd, açık okyanustaki değerlerden bir veya iki kat daha yüksek değerlere ulaşabilmektedir (Suren vd., 2007). İskenderun körfezi deniz suyundaki Cd konsantrasyonu 55, Cu konsantrasyonu 65,2 µg/L olarak bildirilmiştir (Türkmen ve Aras, 2011). Çoban vd. (2009) ise Batı Karadeniz'de 14 istasyonda yaptıkları çalışmada deniz suyunda Cd konsantrasyonunu en az 0,29 en fazla 1,71 µg/L, Cu konsantrasyonunu ise en az 2,84 en fazla 7,73 µg/L olarak bildirilmişlerdir. Accornero vd. (2004) tarafından Adriyatik denizinde yapılan bir çalışmada Güney Adriyatik'te Cu konsantrasyonu 0,30-4,87 µg/L, Cd konsantrasyonu 0,01-0,22 µg/L olarak verilmiştir. Akdeniz açıklarında Cu konsantrasyonu 0,04-0,70 µg/L, Cd konsantrasyonu 0,004-0,06 µg/L olarak bildirilmiştir.

Toksisite testleri, bir biyoindikatör olarak uygun organizmaları tanımlamak ve kimyasallar için su kalitesi standartlarını elde etmek noktasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Toksisite testleri, su ekosistemlerindeki toksik maddelerin etkisini ve akıbetini değerlendirmek için önemli bir araçtır. Ülkemizde, özellikle organizmaların biyoindikatör olarak kullanılmasında ağır metal araştırmaları halen azdır. Bu nedenle, metal toksisitesi hakkında veri toplamak, organizmanın hassasiyetini belirlemek ve Türkiye'nin su topluluklarının korunabilmesi için izin verilebilir bir sınır elde etmek için kullanılacak yerel organizmalar ile çalışmaların yapılması önemli olacaktır. Bakır ve kadmiyum gibi ağır metaller, potansiyel insan sağlığı tehlikeleri nedeniyle son yıllarda bilim dünyasında büyük ilgi görmüştür. Bakır sülfat şeklindeki bakır, bir yosunit olarak ve çeşitli ektoparaziter ile bakteriyel enfeksiyonlar için terapötik bir kimyasal olarak kullanılırken; kadmiyum ise evsel ve endüstriyel atıklarda çeşitli organik ve inorganik maddeler şeklinde kirliliğe önemli etkilerde bulunmaktadır (Shuhaimi-Othman vd., 2010).

Aerobik organizmalarda temel hücrel metabolizma, oksijensiz radikallerin ve radikal olmayan reaktif türlerin (reaktif oksijen türleri olarak adlandırılır; ROT) üretilmesini içerir. Önemli hücrel biyomoleküllerde oksidatif hasara neden olduğu

bilinen süperoksit anyon ve hidroksil radikalleri ile hidrojen peroksit en çok çalışılan ROT'dur. Aerobik organizmalar, ROT'un hücrel hasarını önlemek için tasarlanmış antioksidan savunma mekanizmalarına sahiptirler. Özellikle ağır metaller gibi toksik kimyasal kirleticilere maruz kalmak, endojen ve eksojen ROT arasında bir dengesizliğin ardından antioksidan savunmaların azalmasına neden olabilir. Bu durum biyolojik sistemlerdeki oksidatif stresi, dokulara verilen hasarı, iltihapları ve dejeneratif hastalıkların başlamasına neden olur (Sohal vd., 2002; Finkel ve Holbrook, 2000). Canlı aerobik organizmalardaki ROT ve antioksidan savunmalar arasındaki etkileşim, rolleri reaktif radikalleri engellemek ve etkisiz hale getirmek olan bir dizi hücre içi antioksidan enzim ile bağlantılıdır (Davies, 1995).

Lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzimler gibi biyokimyasal bileşenler, farklı kirleticilere maruz kalan organizmaların potansiyel biyobelirteçleridir (Livingstone 2003; Regoli vd., 2004; Bechard vd., 2008). Bu biyobelirteçler, ölçülmesi daha kolay, daha hassas ve daha az değişken olma gibi avantajlara sahiptirler (Agrahari vd., 2007). Antioksidan enzimlerin oksidatif strese ve dokuya özgü hasara karşı korumak için birlikte veya sinerjik bir şekilde çalıştığı gösterilmiştir. Bu enzim sistemleri, kirletici maruziyete aracılık eden reaktif oksijen türlerinin (ROT) biyobelirteçleri olarak ve çevresel risk değerlendirmesinde potansiyel bir araç olarak önerilmiştir (Kohen ve Nyska 2002; Livingstone 2001). ROT, proteinler, lipitler ve nükleik asitler gibi makromolekülleri hasarlara karşı koruyan bir dizi antioksidan enzim ile detoksifiye edilir (Lushchak vd., 2001; Özmen vd., 2004).

Çevre kirliliğinin bir göstergesi olarak canlılarda ölçülen metalik kirleticiler, özellikle su ürünlerinde ortamda bulunan konsantrasyonlarına bağlı olarak tehlikeli düzeylere erişebilmektedir. Alternatif ve stratejik bir gıda maddesi olan sucul organizmalarda, ağır metal birikimi ve oluşturduğu hasarların araştırılması, bir taraftan ağır metallere karşı duyarlılığı yüksek olan türlerin belirlenmesini sağlarken, diğer taraftan da anılan canlıların vücut mekanizmalarındaki işleyişler ile ilgili parametrelerde oluşabilecek reaksiyonların saptanması noktasında oldukça önemli olacaktır. Doğal ortamda olması kuvvetle muhtemel etkileri yakalayabilmek ve somutlaştırabilmek için kronik subletal testlere ihtiyaç duyulmaktadır (Çetinkaya, O., 2010).

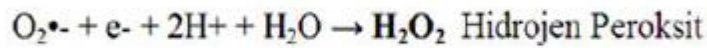
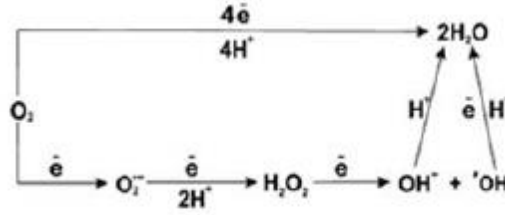
Türkiye ve dünyada tatlı su balıkları üzerine çok sayıda toksikolojik çalışmalar yapılmış olmakla birlikte, ülkemizde deniz balıklarına yönelik toksikolojik çalışmalar sınırlı kalmıştır. Dünyada ise *Sparus aurata* ve *Dicentrarchus labrax*'a yönelik çalışmalar yapılmakla birlikte *Argyrosomus regius* ile ilgili metal maruz bırakılmasına yönelik çalışmalara rastlanmamaktadır. Türkiyede gelişen deniz balıkları yetiştiriciliği için önemi giderek artan alternatif bir tür olan sariağız balıkları üzerinde yapılacak her konudaki araştırmaya ihtiyaç bulunmaktadır. Günümüzde her balık türünün yetiştiriciliği için su kalite kriterleri tam olarak mevcut değildir. Gelecekte akuakültür sistem standartları oluşturulurken sariağız balığı için buradan elde edilecek veriler, bu standartların oluşturulmasına temel oluşturacaktır.

Bu çalışmada, kadmiyum ve bakır iyonlarının farklı *A. regius* üzerindeki akut toksisitesi belirlenmiştir. İlaveten bu metallerin subletal konsantrasyonlarınakronik olarak maruz bırakılan *A. regius*'un kas, karaciğer ve solungaç dokularındaki metal birikimi ile bireylerin biyokimyasal aktivitelerindeki değişiklikleri izlemek için süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glukoz 6 fosfat dehidrogenaz (G6PD) ve glutamat piruvat transaminaz (GPT) enzim aktiviteleri ve ayrıca lipid peroksidasyonunun göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeyleri belirlenmiştir.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres

Biyolojik sistemlerde serbest radikallerin metabolizması son yarım yüzyılda en çok araştırılan konular arasında yer almaktadır. Serbest radikaller, eşleşmemiş elektron içeren atom, molekül ve iyonlardır (Halliwell ve Gutteridge, 1989). Bu eşleşmemiş elektronlar, genellikle kimyasal reaksiyonlarda görev alan yüksek oranda reaktif radikallerdir. Singlet oksijen ( $^1O_2$ ), süperoksit anyon ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil radikali ( $OH^\bullet$ ) en sık karşılaşılan reaktif oksijen türleri (ROT)' dir. Singlet oksijen ( $^1O_2$ ) yapısında eşleşmemiş oksijen içermediği için serbest radikal değildir. Bununla birlikte dönme yönlerinin farklılığından dolayı, oksijenin yüksek reaktif formudur ve oksijenden daha hızlı bir biyolojik moleküldür.  $H_2O_2$  radikal olmamasına rağmen, oksijenden daha yüksek aktiviteye sahip olduğu için reaktif türdür. Çeşitli ROT türleri arasındaki dönüşüm ve ilişkiler Şekil 2.1'de verilmiştir.



Şekil 2.1. Organizmalardaki oksijen metabolizması ve reaktif oksijen türleri arasındaki dönüşüm (Akbulut vd., 2014)

ROT, moleküler oksijenin ( $O_2$ ) kısmi indirgenmesi sonucu oluşan ürünlerdir. Genellikle  $O_2$ , su ( $H_2O$ ) oluşumuyla sonuçlanan mitokondriyal elektron taşıma zinciri tarafından dört elektron ( $4-e$ ) mekanizması ile indirgenir. Ancak tek bir elektronun moleküler oksijene sıralı eklenmesi sonucu süperoksit anyonu oluşur. Ayrıca, hidrojen peroksit ve son olarak da hidroksil radikale ve hidroksil anyonuna ( $OH^-$ ) indirgenir. Zincir, hidroksil radikale elektron ve proton eklenmesi sonucu su oluşumuyla tamamlanır.

Yukarıda belirtildiği gibi, reaktif oksijen türleri çeşitli tipteki antioksidanlarla detoksifiye edilebilir ya da hücre veya hücre dışı komponentlerle etkileşebilir. ROT metabolizması yüksek oranda zarar verme kapasitesi ve biyolojik aktivitesi nedeniyle hücre kontrolü altındadır ve hücre içi konsantrasyonları genellikle  $10^{-8}$  moları geçmez (Foyer ve Noctor, 2009). Bazı durumlarda ROT konsantrasyonları değişebilir. Çünkü ROT sürekli üretilir ve harcanır. Buna rağmen bazı nedenlerle ROT konsantrasyonu oksidatif stres adı verilen redoks durumunun değişmesine böylece hücre, doku ve organların hasar görmesine yol açabilir. Oksidatif stresin kararlı durumu, ROT konsantrasyonunun değiştiği ya da kronikleştiği, hücre metabolizmayı zedeleyip hücre bileşenlerine zarar verdiği bilinen bir durumdur. Normal koşullar altında, ROT'un üretimi ve ortadan kaldırılması arasındaki denge ROT seviyesinin stabilize edilmesiyle sağlanır (Akbulut vd., 2014).

Biyolojik sistemlerde ROT üretiminin pek çok mekanizması vardır ve genellikle oksijen metabolizmasının yan ürünleri olarak üretilir. Organizmalar tarafından tüketilen oksijenin % 90'ından fazlası enerji üretimiyle ilgili elektron transportunun 4-e mekanizması ile kullanılır (Papa ve Skulachev, 1997). Ökaryotlarda mitokondriyal sistem bulunurken, prokaryotlarda elektron taşıma zincirleri plazma membranında bulunur. Koenzim Q ve kompleks III, elektronların moleküler oksijen ile etkileşerek süper oksit anyonunun oluşturduğu mitokondriyal elektron transport zincirinin en önemli bileşenleridir (Demin vd., 1998). Endoplazmik retikulumdaki (ER) elektron transport zinciri ikinci en önemli ROT kaynağıdır (Malhotra ve Kaufman, 2007). Hücre ve yabancı kimyasalların katabolizması sitokrom P450 ile redoks aşamalarını içerir ve ER'deki ROT üretiminden sorumludur. Belirli miktardaki ROT, sitozol ve peroksizomlarda çeşitli oksidazlar tarafından üretilir. Örneğin, triptofan dioksijenaz, ksantinoksidaz ve sitokrom P450 redüktaz gibi enzimler esas olarak süper oksit anyonunu üretirken bunlar gibi aminoasit ve glukozoksidazlar esas olarak hidrojen peroksit üretir (Lushchak, 2011).

Belirli hücre bileşenlerinin ve ksenobiyotiklerin otooksidasyonu (açık havada oksijen ve/veya UV radyasyon varlığında peroksitler oluşturarak oluşan oksidasyon) önemli miktarda ROT üretiminden sorumlu olabilir. Organizmalarda doğal olarak oluşan katekolaminler ve bazı diğer bileşikler spesifik fizyolojik durumlar altında önemli ROT üreticileri olarak rol oynayabilirler ve hatta hastalık ve yaşlanmaya yol açabilirler

(McAnulty vd., 2003). ROT'un ana grubunu oluşturan kirleticiler öncelikle ağır metaller, aromatik hidrokarbonlar, pestisitler, poliklorlubifeniller, dioksinler ve benzer formülasyonlu çevresel kirleticilerdir (Lushchak, 2008; Alak vd., 2013). ROT üretimine yol açan mekanizmalar çok çeşitli olabilir ancak reaktif türün üretimiyle birbirini tamamlamaktadır (Valko vd., 2007).

Bir organizma içindeki antioksidan mekanizmaların üretilmesi ve ROT'un nötürleştirilmesi arasındaki dengesizliğe oksidatif stres denir (Davies, 1995). Oksidatif stres karasal ve sucul toksikoloji için önemli bir konu haline gelmiştir (Valavanidis vd., 2006).

## **2.2. Metal Kaynaklı Oksidatif Hasar**

Metaller, çeşitli çevresel alanlarda çok önemli ve yüksek derecede toksik kirletici olarak kabul edilir. Balıklar, sudaki besin zincirinin en üstünde yer aldığından, metal kirlenmesinin uygun biyoindikatörleridir. Metaller iyi bilinen oksidatif stresin indükleyicileridir ve balıklarda oksidatif hasar ve antioksidan savunmaların değerlendirilmesi, su ortamının metal kirlenmesini yansıtabilmektedir (Livingstone, 2003).

Birçok metal canlı organizmalar için hayati önem taşır. Ancak bazıları yüksek konsantrasyonlarda zehirli olabilir. Demir (hemoglobin yapısında), bakır (solunum pigmentlerinde), çinko (enzimlerde), kobalt (B<sub>12</sub> Vitamininde), molibden ve mangan (enzimlerde), sodyum (Na), potasyum (K) ve kalsiyum (Ca) gibi hafif metaller biyolojik sistemde önemli bir rol oynayabilmektedir. Fe, Cu, Co ve Mn gibi geçiş metalleri gerekli olmalarına karşın yüksek konsantrasyonlarda toksik olabilmektedirler. Hg, Pb, Sn, Ni, Se, Cr ve As gibi metaller genellikle metabolik aktivite için gerekli değildir ve oldukça düşük konsantrasyonlarda bile canlı organizmalar için toksiktir (Mahboob vd., 2013).

Metallerin özellikleri, çözünürlükleri ve kompleksleşmeleri, metallerin su ortamındaki toksisitesini etkileyen önemli faktörlerdir. Çözünmüş metal miktarı temel olarak su pH'ına bağlıdır. Metallerin etkileşimi sucul hayvanlar üzerindeki toksik etkilerini hem olumlu hem de olumsuz yönde değiştirebilir (Jeziarska ve Witeska, 2001). Metaller

maruz kalma şekli de toksisitede rol oynar. Balıklar metalleri solungaçlardan, sindirim sisteminden ve vücut yüzeyinden alır (Kamunde vd., 2002).

Metallerin oksidatif hasara katılımı çok yönlüdür. Genel olarak, metaller iki şekilde serbest radikalleri üretir. Demir, bakır, krom ve vanadyum gibi redoks aktif metalleri redoks döngüsü boyunca ROT oluşturur. Civa, nikel, kurşun ve kadmiyum gibi redoks potansiyeli olmayan metaller, özellikle tiyol içeren antioksidanları ve enzimleri içerenleri antioksidan savunmalarını bozar (Stohs ve Bagchi, 1995). Serbest radikal üretiminin üçüncü önemli mekanizması, demir (II) iyonunun hidrojen peroksit ile ferrik demire (III), bir hidroksil radikaline ve bir hidroksil anyonuna oksitlendiği Fenton reaksiyonudur (Valko vd., 2005).

### **2.2.1. Bakır (Cu)**

Bakır (Cu), metabolik enzimlerin temel bir bileşeni olduğu için canlı organizmalarda hücrel metabolizma için temel bir eser metal ve mikro besindir. Bununla birlikte, suda yaşayan hayvanlarda normal seviyelerden yüksek konsantrasyonlarda hücre içi mekanizmalar için aşırı toksik olabilir. Geniş yayılan kullanımı ile bakır doğal mineral olarak oluşan bol bir elementtir. Bakır kirliliği, mantar öldürücüler, alg öldürücüler, yumuşakça öldürücüler, böcek öldürücüler ve atıkların deşarjının yaygın bir şekilde kullanılması sonucu ortaya çıkar. Bakır sülfat ( $\text{CuSO}_4$ ), ticari ve hobi amaçlı balık havuzlarında, fitoplankton ve filamentli alglerin büyümesini kontrol ve bazı balık hastalıklarını kontrol etmek için bir algisit olarak kullanılır (Valko vd., 2005).

Yüksek redoks potansiyeline sahip olan bakır, fotosentez ve solunum, bağ dokusu oluşumu, demir metabolizması, serbest radikalleri yok etme ve nörolojik fonksiyon gibi çeşitli biyolojik reaksiyonlarında rol oynayan proteinler için bir kofaktör görevi görür (Valko vd., 2005). Sucul hayvanlarda bakır homeostazı, memelilere benzer şekilde düzenlenmiş alım, taşıma ve atılım prosesine sahiptir. Bununla birlikte, bu işlemlerin, bağırsak boyunca emiliminin yanı sıra sucul canlılarda solungaçlar gibi bazı özellikleri vardır. Her iki yol da etkilidir. Ancak birçok faktöre bağlı olarak oldukça düzenli süreçlerdir (Kamunde vd., 2002). Balıklarda Cu toksisitesi ve sudaki biyoyararlanımı suyun fizikokimyasal özelliklerine, yani pH, alkalinite, askıda katı maddeler, organik bileşik içeriği ve sertliğe bağlı olarak değişmektedir (DiGiulio vd.,



1989). Serbest bakır konsantrasyonu su asitliği ile artar bununla birlikte bakır hidroksit, pH 8.0 ve daha yüksek sularda baskındır (Tao vd., 2001).

Hücrel ihtiyaçları aşan bakır, serbest radikal üretimine ve lipitlerin, proteinlerin ve DNA'nın doğrudan oksidasyonuna aracılık eder. Bu nedenle, bakırın hücre içi ve hücre dışı içerikleri arasındaki denge, alım, atım ve hücre içi bölümlendirmeyi düzenleyen hücrel taşıma sistemleri tarafından yönlendirilir (Lage vd., 2006). Bakır gereksinimi ve toksisite arasındaki denge hem hücrel düzeyde, hem de doku ve organ düzeyinde sağlanır (Nayak vd., 2007). Hücrel toksisite, bakır iyonlarının reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumuna katılmaya eğilimli olduğu varsayımından gelir. Bakır ve bakır iyonları oksidasyon ve indirgeme reaksiyonlarında etkili olabilirler. Askorbik asit veya glutatyon (GSH) gibi biyolojik indirgeyicilerin mevcudiyetinde bakır (II) iyonu, Fenton reaksiyonu yoluyla hidrojen peroksitin ayrışması ile reaktif hidroksil radikallerinin (OH<sup>-</sup>) oluşumunu katalize edebilen bakır (I) iyonuna indirgenebilir (Cavas vd., 2005).

### **2.2.2. Kadmiyum (Cd)**

Kadmiyum doğal olarak ortaya çıkan ve vücut için gerekli olmayan bir iz elementtir. Canlı organizmalarda sıklıkla tehlikeli seviyelerde birikme eğilimi vardır. Bundan dolayı çevresel kaygıları arttırmaktadır (Kalman vd., 2010; Lio vd., 2011). Kadmiyum üretimi, tüketimi ve çevreye emisyonları, 20. yüzyıl boyunca endüstriyel kullanımı (bataryalar, galvanik kaplamalar, plastik stabilizatörler, pigmentler) nedeniyle çarpıcı bir şekilde artmış ve sonuç olarak su habitatlarının kirlenmesine yol açmıştır (Jarup, 2003). Esas itibariyle su ortamındaki Cd kaynağı endüstriyel faaliyetlerden kaynaklanır (Stohs ve Bagchi, 1995). Parçalanamayan kümülatif bir kirletici madde olarak, kadmiyumun yüzyıllarca sudaki trofik seviyelerini değiştirebildiği düşünülmektedir. Bu ağır metal balıkların esas olarak (yaklaşık % 75) böbrek, karaciğer ve solungaç dokularında birikir, daha az bir oranda da kalp ile diğer dokularda birikir (Authman vd., 2015).

Cd, doğrudan ROT üretmez, ancak glutatyon (GSH) seviyelerini değiştirebilir ve hücre tiyol durumunu etkileyerek karaciğerde metalotiyoninlerin oluşmasını indükleyebilir. GSH ve MT'lerde meydana gelen değişiklikler hücre zarının yağ

peroksidasyonun neden olabilir. Cd, mitokondride elektron taşıma zincirine girerek süperoksit radikallerini oluşturan elektronları taşıyan ubikinonlarından dengersiz birikmesine neden olur. Cd ayrıca antioksidan enzimleri, özellikle SOD ve CAT'i de etkiler ve Cu ile Fe'i çeşitli proteinlerde değiştirebilir. Bu metalleri daha sonra Fenton reaksiyonuna katılmak üzere serbest bırakır (Erçal vd., 2001). Metalotiyoninler, kadmiyumun detoksifikasyonunda önemli bir rol oynarlar ve bu süreç dokulara özgüdür (De Smed vd., 2001).

Kadmiyuma maruz kalan balıkların karaciğerinde morfolojik ve histolojik değişiklikler meydana gelebilmektedir (Thophon vd., 2003). Kadmiyum solungaçlarda kalsiyum alımını inhibe eder ve iz elementlerinin Zn ve Cu gibi normal doku dağılımını etkileyerek gerekli iz elementin metabolizmasını değiştirebilir (Verbost vd., 1987; Li vd., 1995). Kadmiyum eritrositlerin yıkımına neden olarak hematokrit değerini ve hemoglobin konsantrasyonunu azaltır ve anemiye yol açar (Gill ve Epple, 1993). Ayrıca, kadmiyum karbonhidratların metabolizmasını değiştirir, bazı deniz ve tatlı su balıklarında hiperglisemiye neden olur ve glutamat oksaloasetat transaminaz (GOT) ve glutamat piruvat transaminaz (GPT) enzim aktivitelerine etki eder (Zikic vd., 2001). Kadmiyumun endokrin bozucu olduğu düşünülür ve testislerde hormon sentezini değiştirdiği, steroid, yumurta ve sperm oluşumunu engellediği bildirilmiştir (Vetillard & Bailhache, 2005). Ayrıca, uzun süre kadmiyuma maruz kalmanın olgunlaşma ve larva gelişimi üzerine olumsuz etkisi kaydedilmiştir (Giari vd., 2007). Yine düşük konsantrasyonlarda kadmiyuma maruz kalma, DNA hasarına ve strese neden olabilmektedir (Jia vd., 2011).

### **2.3. Antioksidan Savunma Sistemleri**

Sucul organizmalardaki antioksidan sistemler hem düşük hem de yüksek moleküler ağırlıklı antioksidanları içerirler (Livingstone, 2001). Düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar, glutatyon, askorbik asit (C vitamini) gibi suda çözünen ve karotenoid ( $\beta$ -karotendahil), retinol (A vitamini), ve  $\alpha$ -tokoferol (E vitamini) gibi yağda çözünen bileşiklerde tanımlanmıştır. Bunlar genellikle serbest radikalleri ortamdan uzaklaştırmada görev alırlar. Örneğin; bu bileşikler GSH, GPx ya da GST gibi antioksidan ve detoksifikasyon enzimlerinin kofaktörü olarak rol oynar. Belirli bir

grup olan antioksidan enzimler; süperoksit dismutaz (SOD), katalazlar (CAT), Se-bağımlı glutatyon peroksidazlar (Se-GPx), DT-diaforaz gibi enzimleri içerir ve glutatyon redüktaz (GR), glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PDH) gibi gerekli kofaktörleri sağlar. Metalotiyoninler ve ferritin gibi spesifik olmayan yüksek moleküler ağırlıklı antioksidanlar, metal iyonlarına (özellikle demir ve bakır gibi) bağlanarak ROT kaynaklı hasarı önleyen proteinlerdir.

#### **2.4. Çalışmada Kullanılan Biyokimyasal Parametreler**

Çevresel kirlilik, kirlenici unsurların mevcudiyeti ile doğaya zarar verir. Günümüzde bu unsurların canlılara verdiği zarar düzeylerinin boyutları konusunda önemli çalışmalar yapılmaktadır. Bu konuda kirlenici etmenlerin canlıların vücutlarında oluşturduğu etki ve hasarları ortaya koymak için farklı perspektifler kullanılmaktadır. Bunlardan biri de biyokimyasal parametrelerdir. Çalışmamızda biyokimyasal parametreler olarak antioksidan enzimlerden katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glukoz 6 fosfat dehidrojenaz (G6PD) enzimleri kullanılmıştır. Yine hücre hasarın göstergeleri lipid peroksidasyon ürünü malondialdehit (MDA) ve karaciğer hasarının tesbiti için kullanılan ve bir hücre içi enzim olan glutamat piruvat transaminaz (GPT) değerlendirilmiştir.

##### **2.4.1. Süperoksit dismutaz (SOD)**

1968 yılında McCord ve Fridovich tarafından tanımlanan SOD reaktif oksijen türlerine karşı ilk savunma işlemini yapan enzimdir (Karabulut ve Gülay 2016). SOD, süperoksit radikalini ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ile moleküler oksijene katalizleyen bir antioksidandır. Hidrojen peroksit daha sonra katalaz ya da glutatyon peroksidaz (GPx) ile moleküler oksijen ve suya dönüştürülerek ortamdan uzaklaştırılır.

SOD'un farklı formları bulunur. Bunlardan bakır (Cu) ve çinko (Zn) içeren süperoksit dismutaz (Cu/Zn SOD) sitozolde, mangan (Mn) içeren süperoksit dismutaz (Mn SOD) mitokondride ve ekstrasellüler süperoksit dismutaz (EC SOD) hücre dışı sıvılarda bulunur (Çavdar vd., 1997; Young ve Woodside, 2011). Cu/Zn SOD, her bir alt ünitesinde bir Cu ve bir Zn atomu içerir. Hücrelerde en bol bulunan SOD formudur (Nordberg ve Arner, 2001; Mruk vd., 2002). Mn SOD, mitokondriyal bir enzim olup

dört eşit alt üniteye sahiptir. Aktif bölgesinde  $Mn^{+3}$  bulundurmaktadır. Farklılıklara rağmen Cu/Zn SOD ile aynı reaksiyonu katalizlemektedir (Orbea vd., 2000). Ekstrasellüler süperoksit dismutaz, her bir alt ünitesinde bir Cu ve bir Zn atomu içerir. Bakır ve çinko enzimatik aktivite için gereklidir. Ekstrasellüler süperoksit dismutazın öncelikli yeri ekstrasellüler matriks ve hücre yüzeyleridir. Bu bölgelerde plazmada bulunandan daha yüksek yoğunlukta bulunur. Ekstrasellüler süperoksit dismutaz, fibroblast hücreleri, glia hücreleri ve endotel hücreleri tarafından salgılanmakta ve sentezlenmektedir (Karabulut ve Gülay, 2016).

#### **2.4.2. Katalaz (CAT)**

Hidrojen peroksit, bir radikal olmamasına ve biyolojik önemi olan moleküllerin çoğu ile reaksiyona girmemesine rağmen, Cu ve Fe iyonlarının katalizörlüğünde Fenton reaksiyonu ile en reaktif oksijen türü olan hidroksil radikali ( $OH\cdot$ ) oluşumunda bir ön madde olarak rol oynamaktadır (Cheung vd., 2001; Karabulut ve Gülay 2016). Bu fonksiyonu nedeniyle ortamdan elimine edilmesi gerekmektedir.  $H_2O_2$ 'nin hücre içinde yıkımını temin eden enzimlerden biri katalaz enzimidir. Katalaz enzimi  $H_2O_2$ 'den kaynaklı oksidatif hasarı yok eden kuvvetli bir antioksidandır (Kuru, 2007). Katalaz enzimi, süperoksit dismutaz (SOD) faaliyeti neticesinde oluşan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) molekülünün indirgenerek su ve oksijen moleküllerine dönüşümünü katalizler (Atabeyoğlu, 2011). Katalaz, perooksizomların yanında mitokondri, endoplazmik retikulum ve sitozolde de bulunur. Daha çok karaciğer, böbrek ve çizgili kas hücrelerinde yüksek bir etkinliğe sahiptir (Kuru, 2007; David vd., 2008).

#### **2.4.3. Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz**

Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimi alyuvarlarda kan hücrelerini oksidasyon tepkimelerine karşı koruyan önemli bir enzimdir. Normal alyuvarlarda sürekli olarak glukozun % 90'ı aerobik glikolizle yakılırken %10'u heksoz monofosfat yolu ile metabolize edilir ve NADPH elde edilir (Fairbanks ve Klee, 1977). Heksoz monofosfat yolunun aktivitesi oksidatif stres durumunda açık bir şekilde artış göstermektedir (Fairbanks ve Klee, 1977). Bu enzim pentoz monofosfat yolunun ilk seviyesini katalizleyen anahtar bir enzimdir (Shreve ve Levy, 1977). Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz bitki ve hayvanlarda bulunur ( Scott, 1975). Genellikle sitoplazmada ve

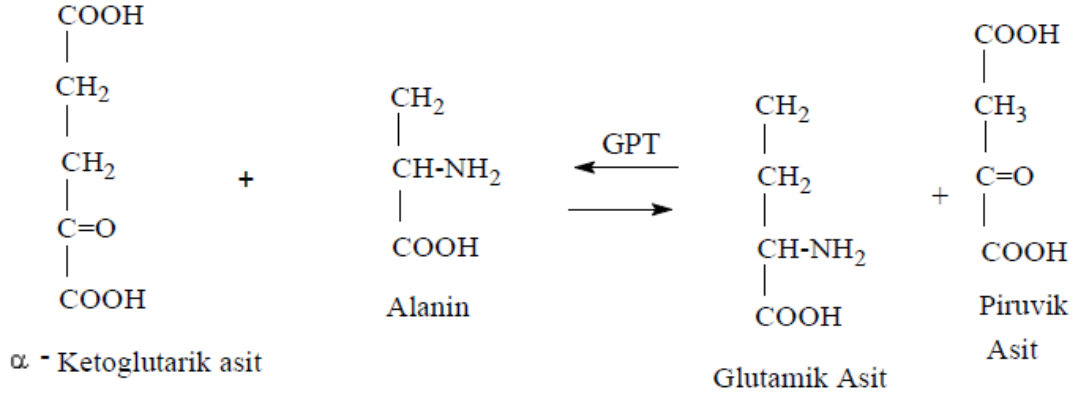
organellerinde bulunmaktadır (Antonenkov, 1989). G6PD enzimi, glukoz 6-fosfat'dan 6-fosfoglukonolakton ve NADPH oluşum reaksiyonunu katalizler.

Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, glutatyonun hücre içi seviyesinin korunmasında gerekli olan nikotinamid adenin dinükleotit fosfat'ın (NADPH) yapımında rol almaktadır. Glutatyon ise dış faktörlerin etkisiyle eritrositler içinde meydana gelen oksidan maddelerin yok edilmesinden sorumludur. G6PD eksikliğinde alyuvarları oksitleyici bir strese uğradıklarında glutatyonu indirgenmiş durumda tutamadıkları için hemoliz gelişir. Alyuvarlarda oksidatif hasara karşı gelişen savunma, mevcut enzim aktivasyonu ile orantılıdır (Glader, 2008). Çoğunlukla stoplazmada, ayrıca lizozom, endoplazmik retikulum, peroksizom, kloroplast ve mitokondri gibi çeşitli organellerde de bulunmaktadır (Bublitz ve Steavenson, 1988).

#### **2.4.4. Glutamat piruvat transaminaz (GPT)**

Glutamat piruvat transaminaz (GPT) sitoplazmada bulunan önemli bir transaminazdır. Transaminazlar bir aminoasidin amino grubunu bir keto aside aktarmasını katalize eden bir grup enzimdir. Bu enzim alanin transaminaz olarakta adlandırılır. Glutamat piruvat transaminaz (GPT), karaciğer, solungaç ve kas gibi dokularda kirleticilerin neden olduğu doku hasarlarının teşhisinde çok sık kullanılan önemli bir enzimdir (De la Torre vd., 1999).

Transaminazlar gerek hayvan ve gerekse bitki dokularında mevcut olup, azot metabolizması için oldukça etkindirler. Özellikle kanda transaminazların yükselmesi karaciğer ve kalp hasarının göstergesi şeklinde bilinir. Bu enzimin katalizörlüğünde L-alanin'in amino grubu,  $\alpha$ -ketogulutarik aside aktarılması glutamik asit ve piruvik asit oluşturma tepkimesi Şekil 2.2'de verilmiştir.



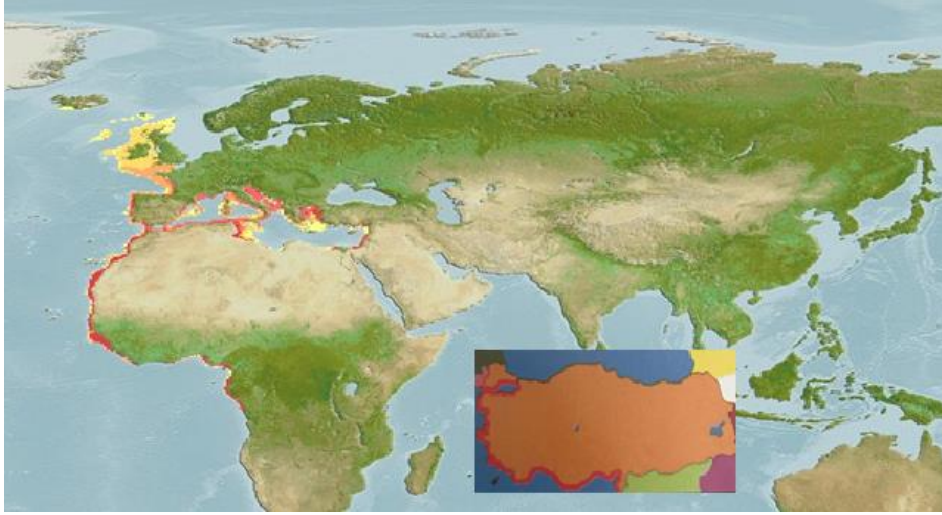
Şekil 2.2. GPT katalizörlüğünde L-alanin'in amino grubu, alfa-ketoglutarik asite aktarılması ile glutamik asit ve piruvik asitin oluşması tepkimesi (Yüzereroğlu, 2011)

#### 2.4.5. Malondialdehit (MDA)

Oksidatif stres; vücutta birçok molekülün yapısına zarar verebilmektedir. Bu zararlar oksijen radikallerinin amino asit yan zincir yapılarını etkileyerek protein kümeleşmelerinin oluşmasına neden olur. Bu da peptid bağlarının kopmasına yol açabilir. Bunun yanında DNA'ya tesir ederek, hücrede mutasyon ve hücre ölümüne kadar bir takım önemli sonuçları oluşturacak biyolojik süreçlere neden olur. Yine lipid peroksidasyonu zar işlevlerini olumsuz etkileyerek bağlı bulunduğu reseptör ve enzimlerin etkinliğini sınırlar. Aynı zamanda zar akışkanlığına da zarar vererek geçirgenliğinin artmasına sebebiyet verir. Lipid perodiksiyonunun en önemli ürünü MDA'dır. Yukarıda bahsedilen membrana etkilere MDA sebep olur (Morales vd., 2004). Malondialdehit (MDA), doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucunda oluşan başlıca bir sekonder ürün olup, bu ürünün uzun ömürlü ve yüksek reaktiviteye sahip olması sebebiyle dokulardaki düzeyleri peroksidasyonun şiddetini belirlemek için kullanılmaktadır (Aldini vd., 2007).

#### 2.5. *Argyrosomus regius*'un Dağılım Alanları ve Genel Özellikleri

Akdeniz, Ege ve Marmara denizlerini kapsayacak şekilde Doğu Atlantik, Norveç'ten Cebelitarık boğazına ve Kongo'ya kadar bir dağılım gösterir (Gonzalez-Quiros vd., 2011) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. *Argyrosomus regius* (Asso,1801)'un dağılım alanları (Turan, 2007)

İnce uzun vücutlu ve nispeten kafa büyüktür. Ağız terminal konumlu ve bıyiksızdır. Gözler oldukça küçük, yanıl çizgi belirgin, kuyruk yüzgecine kadar uzar. İkincil dorsal yüzgeç birinci dorsal yüzgeçten daha uzundur. Anal yüzgeçte birinci kısa diken radiuslarına ve ikinciler daha incedirler. Çok büyük otolitleri vardır. Vücut rengi gümüşü-gri dorsalde bronzumsudur. Yüzgeç tabanları kırmızımsı-kahverengi ve ağız boşluğu sarı veya portakal rengindedir (Şekil 2.3) (Turan, 2007).



Şekil 2.4. *Argyrosomus regius* (Asso,1801)

Total vücut uzunluğu 180 cm ve canlı vücut ağırlığı ise 50 kg'a kadar ulaşabilir. Kıyı balıklarından biridir. Özellikle akarsuların denizlerle birleştiği nehir ağızları ile 80 metreden daha az derinliklerinde bulunurlar. Anadrom bir tür olup, genellikle mayıs sonlarında nehir ağızlarına girer ve yumurtlarlar. Daha sonra kıyı ötesine göçerler. Buna karşın *Argyrosomus regius* (Asso, 1801)'un bazı bölgelerde Ocak- Mayıs ayları arasında olduğu da rapor edilmiştir. Juvenilleri çoğunlukla küçük demersal balıklar ve krustaseler üzerinden beslenirler. 40 cm'den sonra pelajik ve sefalopodları tercih ederler. Su sıcaklığı oldukça önemli bir faktördür. Trofik göç ve üremenin tayininde

oldukça önemli bir rol oynar. Büyüme için en uygun su sıcaklığı 17-21 °C'dir. Olgun bir dişi birey maksimum 800.000 yumurta verebilir. Yumurtlama 17-22 °C'de oluşur. Döllenen yumurta 990 µm çapındadır. 90 saatten sonra vitellüs kesesi tüketilir ve ağız açılır. Son araştırmalara göre; otolit okumalarından anlaşılacağı üzere en yüksek yaş okuması 182 cm'lik boy uzunluğundan 36 yaş olarak belirlenmiştir. Ancak farklı araştırmacılar 41 ve 42 yıl olarak da belirlemişlerdir. Aynı araştırmacılar ilk cinsel olgunluğu 61.6 cm erkek, 70-110 cm boy uzunluğunu ise dişiler için hesaplamışlardır (Gonzalez-Quiros vd., 2011).

Son yıllardaki akuakültür çalışmalarında bu türün yetiştiriciliğine ilişkin çalışmalar artış göstermiştir. İlk yetiştiricilik çalışmaları Fransa'da başlamış sonra İtalya'da devam etmiştir. İtalya'daki ilk ticari üretim yılı 2002 olarak bildirilmiştir. Ülkemizde ise 2000 yılının sonunda ilk yetiştiricilik çalışmaları başlamış, 2005 yılında başarıya ulaşmıştır (Tokşen vd., 2007). Günümüzde de Fransa, İtalya ve Mısır gibi pek çok ülkede yetiştiriciliği yapılmaktadır.

## **2.6. Balıklarda Bakır ve Kadmiyumla İlgili Yapılan Çalışmalar**

### **2.6.1. Balıklarda bakır ve kadmiyum toksisitesi**

Wong vd. (1999), bakırın toksisitesini yerel kültür balıkçılarından temin edilen gümüş çipura *Sparus sarba* fingerlinglerinde (9,4±2,1 g) ve juvenillerinde (85,5±27,1 g) incelemişlerdir. 96 saatin üzerinde yapılan statik testler, juvenillerin daha küçük fingerlinglere göre daha toleranslı olmadığını göstermiştir. 24 saat, 48 saat, 72 saat ve 96 saat LC<sub>50</sub>; fingerlingler için sırasıyla 2,01 mg Cu/L, 1,28 mg Cu/L, 1,17 mg Cu/L ve 1,03 mg Cu/L olarak, juveniller için sırasıyla 2,36 mg Cu/L, 1,52 mg Cu/L, 1,34 mg Cu/L ve 1,24 mg Cu/L olarak hesaplamışlardır. 30 günlük bakır maruz bırakma deneylerinde; *S. sarba*'nın 96 saatlik LC<sub>50</sub> değerinin % 13, % 25 ve % 40'ına tekabül eden bakır konsantrasyonları, büyüme hızı üzerindeki etkilerini incelemek için kullanılmıştır. Fingerling'in büyüme hızı juvenillere göre yaklaşık yüz kat daha yüksek bulunmuştur. Hem fingerling hem de juvenil için, 0,15 mg Cu/L'de (96 saatlik LC<sub>50</sub> değerinin % 40'ı) düşük büyüme gözlenmiştir. Büyümenin, toksisite testleri için mortaliteden daha hassas bir son nokta olarak ortaya çıktığını bildirmişlerdir.



Mazon ve Fernandes (1999), Brezilya'ya özgü önemli bir ticari tür olan *Prochilodus scrofa* juvenillerinde (W=15-25 g; L=10-15 cm) bakır (LC<sub>50</sub>) toksisitesini belirlemeyi amaçladıkları çalışmada 96 saat süreyle farklı konsantrasyonlarda bakıra maruz bırakmışlardır. Kontrol ve 16 µg Cu/L'ye maruz kalan balıklarda deneyler sırasında ölüm gözlemlenmemiş, ancak 51 µg Cu/L maruz kalan *P. scrofa*'nın tümü 72 saat maruz kaldıktan sonra ölmüştür. *P. scrofa* için 96 saatlik LC<sub>50</sub> değeri 29±3 µg Cu/L olarak bulunmuştur. *P. scrofa* için hesaplanan 96 saatlik LC<sub>50</sub>, benzer sertlik, pH ve sıcaklıktaki suda *P. promelas*, *C. auratus* ve *P. reticulatus* için bulunanlara benzer bulunmuştur. *P. scrofa* üzerindeki bakır toksisitesinin balık büyüklüğü ile ilişkili olduğunu ve bakır iyonlarına karşı *P. promelas* ve *S. clarki*'den daha duyarlı olduğunu bildirmiştir.

Zyadah ve Abdel-Baky (2000), endüstriyel tesisler, kanalizasyon drenajı, atmosferik kirlilik ve ağır metal kirliliğine yol açan diğer doğal kaynaklar dahil olmak üzere farklı kaynaklardan deşarjlar alan kıyı iç sularından topladıkları *Mugil cephalus*, *Tilapia zilli* ve *Mysis sp.* juvenillerinde 144 saat süreyle farklı konsantrasyonlarda Cu, Cd ve Zn metal iyonlarına bireysel olarak maruz bırakmışlar ve LC<sub>50</sub> değerini hesaplamışlardır. Ayrıca *M. cephalus* bakır ve çinko karışımına 144 saat boyunca maruz bırakılarak toksisitesi incelenmiştir. *M. Cephalus* için 24, 48, 96, 120 ve 144 saat Cu LC<sub>50</sub> değerlerini sırasıyla 6,3; 5,33; 4,35; 3,58 ve 2,65 mg/L Cu olarak hesaplamışlardır. *Tilapia zilli* ve *Mysis sp.* için 24, 48, 72 ve 96 saat LC<sub>50</sub> değerlerini sırasıyla 9,2; 5,5; 4,5; 3,5 mg/L Cu, 5,46; 4,47; 3,55; 0,78 mg/L Cd ve 4,86; 2,89; 2,04; 1,44 mg/L Cu, 0,8; 0,47; 0,36; 0,31 mg/L Cd olarak belirlemişlerdir. *M. cephalus* için bakır ve çinko karışımlarında 72, 96, 120 ve 144 saat LC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 1,7; 1,1; 0,8 ve 0,6 mg/L olarak belirlenmiştir. Hem bakır hem de kadmiyum toksisitesi bakımından *Mysiss sp.*'nin balık türlerinden daha hassas olduğunu bildirmiştir.

Oliva vd. (2007), yaptıkları çalışmada, bakıra maruz kalmanın (mortalite ve morfolojik değişiklikler) çipura (*Sparus aurata*)'nın erken yaşam evrelerine (Yumurtalar/embriyolar ve larvalar) etkilerini incelemişlerdir. Yumurta/embriyo testlerinde 0,001 ila 10 mg/L arasında değişen bakır; embriyo testlerinde ise 0,025 ila 0,5 mg/L arasında değişen bakır konsantrasyonlarında, embriyolar için 48 saat ve larvalar için 96 saat süreyle maruz bırakılmışlardır. 0,1 mg/L'ye maruz kalan embriyolarda (% 97,2) ve 0,5 mg / L'ye maruz kalan larvalarda yüksek oranda (% 100) ölüm gözlenmiştir. LC<sub>50</sub> 48

saat olarak ifade edilen akut toksisite, embriyolar için 0,054 (0,048-0,058) mg/L ve larvalar için 0,261 (0,182-0,375) mg/L olarak hesaplamıştır. Embriyolardaki morfolojik değişiklikler veya anormallikleri, düzensiz koryon, opaklık ve vitellus dejenerasyonu olarak; larvalarda ise, yüzme, titreme, myoskeletal defektler, opaklık ve egzofthalmi olarak bildirmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, *Sparus aurata*'nın erken yaşam evrelerinin bakır iyonlarına yüksek hassasiyetini ve ölümcül etkilerin kalıcılığını göstermiştir.

Levy vd. (2009), bölgelerindeki kuluçkahanelerde bulunabilen ve metallere karşı yüksek hassasiyet göstermesi nedeniyle toksikolojik çalışmalarda tercih edilen yerli iki tür olan *Prochilodus vimboides* ve *Leporinus macrocephalus* için bakır ve kadmiyumun öldürücü konsantrasyonlarını (96 saatlik LC<sub>50</sub>) belirlemek üzere laboratuvarında doksan altı saatlik statik biyodeneyle gerçekleştirilmiştir. *Prochilodus vimboides* ve *Leporinus macrocephalus* için 96 saatlik LC<sub>50</sub> değerleri bakır için, sırasıyla 0,047 ve 0,090 mg/L ve kadmiyum için 3,16 ve 7,42 mg/L olarak hesaplamışlardır. Metaller arasında akut toksisitede farklılıklar gözlenmiş ve bakırın test edilen balıklar için kadmiyumdaki 75 kat daha toksik olduğu tespit edilmiştir.

Liang vd., (2010), tarafından mercan'ın (*Pagrus major*) embriyonik ve larvalarında bakırın akut (0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 mg Cu / L) ve kronik (0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.110 mg Cu/L) toksisitesi, 18 °C'de (suda çözünmüş organik karbon, 1.8 mg C/L; sertlik, 6,183 mg CaCO<sub>3</sub>/L; tuzluluk, 33 ppt) statik biyodeneyle koşullarında araştırılmıştır. Bakırın embriyolar için 24 ve 48 saat LC<sub>50</sub> değerleri 0,23 ve 0,15 mg/L, larvalar için 48, 72 ve 96 saat LC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 0,52, 0,19 ve 0,13 mg/L olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar embriyoların Cu toksisitesine larvalardan daha duyarlı olduğunu göstermiştir. 0,06 mg konsantrasyondaki bakır maruziyetleri, düşük kuluçkalama başarısı, embriyoların kuluçka döneminde bir gecikme ve larvaların büyümesinde azalmaya neden olurken, 0,08 mg/L'den daha yüksek konsantrasyonlarda embriyo ve larvada yüksek mortalite ve morfolojik bozukluklar meydana gelmiştir. Bakır konsantrasyonu embriyoların kalp atış hızını önemli ölçüde etkilememiştir, ancak Cu konsantrasyonu 0,08 mg/L olduğunda, yeni çıkmış larvaların kalp atış hızını önemli ölçüde azaltmıştır, bu da yüksek konsantrasyonlarda kırmızı çipuranın kalp atışlarının larva aşamasında embriyonik aşamada olduğundan daha kolay etkilendiğini göstermiştir. Yumurtadan çıkma başarısı, yumurtadan çıkma

süresi, büyüme hızı, morfolojik anormallik ve kalp atım hızı Cu konsantrasyonuna bağımlı bulunmuş ve doğada mercan'ın erken yaşam evrelerinde Cu toksisitesini değerlendirmek için etkili son noktalar olduğu ifade edilmiştir.

Paruruckumani vd. (2015), acı ve tatlı su yetiştiriciliği için önemli bir aday balık türü olarak kabul edilen Asya levrek (*Lates calcarifer*) balığının gençlerinde bakırın akut toksisitesini araştırmışlardır. Denemeler, standart yönergelere göre statik biyodeny test koşulunda gerçekleştirilmiştir. LC<sub>50</sub> değerleri, probit analizi ile 24 saat, 48 saat, 72 saat ve 96 saat maruz bırakma için hesaplanmıştır. Levrek yavruları için % 95 güven aralığında 24, 48, 72 ve 96 saat LC<sub>50</sub> değerleri 110.83, 93.58, 76.71 ve 68.32 mg/LCu<sup>+2</sup> olarak hesaplanmıştır.

Javed vd. (2016), Kadmiyumunun akut toksisitesini üç balık türü için (*Channa marulius*, *Mystus seenghala* ve *Wallago attu*) belirlemişlerdir. Bu toksisite testleri, sabit su sıcaklığında (28 °C), pH 8 ve 250 mg/L toplam sertlikte, her balık türünden üç uzunluk grubu (50, 100, 150 mm) ile yapılmıştır. 96 saat LC<sub>50</sub> Cd konsantrasyonları % 95 güven aralığında probit analiz yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. *Channa marulius*'da 5 cm, 10 cm ve 15 cm balıklarda sırasıyla 96 saat LC<sub>50</sub> değerlerini 86,74; 97; 120,01 mg/L; *Mystus seenghala*'da 5 cm, 10 cm ve 15 cm balıklarda sırasıyla 96 saat LC<sub>50</sub> değerleri 23,86; 27,95; 39,04 mg/L; *Wallago attu*'da 5 cm, 10 cm ve 15 cm balıklarda sırasıyla 96 saat LC<sub>50</sub> değerlerini 29,45; 39,04; 49,65 mg/L olarak hesaplanmıştır. Üç etçil balık türü arasında, *M. seenghala*, Cd toksisitesine, *W. attu* ve *C. marulius*'dan belirgin şekilde daha yüksek hassasiyet göstermiştir. Bununla birlikte, her üç balık türünün 50 mm uzunluk grubu, Cd'ye karşı belirgin bir şekilde daha yüksek hassasiyet sergilemiştir. Bunu takiben 100 ve 150 mm uzunluk gruplarının geldiği ve farkın anlamlı olduğu bildirilmiştir.

### 2.6.2. Dokularda bakır ve kadmiyum birikimi

Wong vd. (1999), biyobirikimini gümüş çipura *Sparus sarba* fingerlinglerinde (9,4±2,1 g) ve juvenillerinde (85,5±27,1 g) incelemiştir. 96 saatlik LC<sub>50</sub> değerinin % 13, % 25 ve % 40'ına tekabül eden bakır konsantrasyonları, *S. sarba*'nın 30 günlük bakır maruz bırakma deneylerinde dokulardaki birikim üzerindeki etkilerini incelemek için kullanılmıştır. 30 gün boyunca bakıra maruz kalan balıklar, kontrol

hayvanlarından daha fazla bakır içerdiği tespit edilmiştir. Hem fingerling hem de juveniller için en yüksek bakır konsantrasyonları bağırsakta bulunmuş ve dokularda biriken bakır konsantrasyonları, bağırsak> karaciğer> gonad> solungaçları> deri ve kas şeklinde belirlenmiştir.

Mazon ve Fernandes (1999), Brezilya'da bulunan nehirlerde bakır konsantrasyonlarının sürekli artmasından sonra o bölgeye özgü önemli bir ticari tür olan *Prochilodus scrofa*'nın dokularındaki bakır birikimini test edebilmek amacıyla *P. scrofa* juvenilleri 20, 25 ve 29 µg/L bakıra 96 saat boyunca maruz bıraktıktan sonra solungaç, karaciğer, böbrek, beyaz kas ve bağırsak dokularındaki bakır miktarlarını ölçmüşlerdir. 96 saat boyunca 25 ve 29 µg Cu/L'ye maruz kaldıktan sonra *P. scrofa*'da bakır birikimi, kontrol balıklarına kıyasla, karaciğer, bağırsak, böbrekler ve solungaçlarda belirgin şekilde daha yüksek bulunurken beyaz kasta biriken bakırda anlamlı bir fark tespit edilmiştir. Karaciğerde bakır birikimi diğer dokularla karşılaştırıldığında en fazla bulunmuş, bunu bağırsak ve böbrek izlemiştir. Karaciğer ve böbreklerin toksik maddelerin detoksifikasyonunda ve atılımında önemli bir rol oynadığını, bu durumun da bu organlardaki yüksek bakır birikimini açıkladığını ifade etmişlerdir. Bununla birlikte, *P. scrofa*'da olduğu gibi bağırsakta biriken bakırın, diğer iki türde, sazan (*Cyprinus carpio*) ve tilapia (*Oreochromis mossambicus*) da bulunanlarla benzer olduğu bildirilmiştir.

Cengiz vd. (1999), 25 gün boyunca 1, 2 ve 3 mg/L bakır ve çinkoya maruz bıraktıkları *Cyprinus carpio*'nun çeşitli organlarındaki metal birikimini inceledikleri araştırmada, test süresince dokulardaki Cu ve Zn birikiminin arttığını belirlediler. En yüksek bakır birikimini böbrekte, takiben sırasıyla karaciğer, solungaç, yumurtalık ve kasta olduğunu bildirmiştir. Böbrekteki birikimin kastan 2-3 kat daha fazla olduğu ifade edilmiştir. Çinko için, en fazla birikimin karaciğerde olmakla birlikte dokularda bakır ile benzer birikim gösterdiği belirtilmiştir.

Yine Cinier vd. (1999), sazan (*Cyprinus carpio*) balıklarını, deneysel olarak kirlenmeye maruz bırakarak kadmiyum birikimi ve eliminasyonu açısından test etmişlerdir. Balıkları, sürekli bir su akışı (8 L/dk) olan ve kuyu suyu ile beslenen iki adet 1000 L'lik kapalı beton akvaryumlara dağıtıp, kadmiyum konsantrasyonu 53 mg/L ve 443 mg/L olan akvaryumlarda 127 gün boyunca tutmuşlardır. Maruz kalma

evresini 43 günlük bir temiz suda bekletme dönemi takip etmiştir. Karaciğer, böbrek ve kasta kadmiyum birikimini ICP-MS ile ölçmüşlerdir. Veriler, kadmiyuma maruz kaldıkça dokuların önemli bir şekilde kadmiyum alımı yaptığını göstermiştir. Kadmiyum konsantrasyonları böbrek ve karaciğerde belirgin bir şekilde yükselirken, kastaki kirlenici madde seviyesi yalnızca 106 gün sonra anlamlı bulunmuştur. 127 günlük Cd maruz bırakılmasından sonra (53 mg/L), böbrekteki kadmiyum konsantrasyonu karaciğerden 4 kat daha fazla, kas'a kıyasla 50 kat daha yüksek bulunmuştur. 443 mg/L Cd konsantrasyonlarında ise böbreğin kadmiyum içeriği karaciğerden 2 kat, kastan 100 kat daha yüksek olarak saptanmıştır. Böbrek ve karaciğerde, sudaki kirlenici madde konsantrasyonu arttıkça toksik konsantrasyonunun arttığı belirlenmiştir. 43 günlük temiz suda kalmasıyla, biriken kadmiyum kaybı hızlı, fakat kasta orta şiddetliken, tersine, böbrek ve karaciğerde kadmiyum kaybı gözlenmemiştir.

Cicik (2003), yaptığı çalışmada, Cu, Zn ve Cu+Zn karışımında sazan (*Cyprinus carpio*)' nin karaciğer, solungaç ve kas dokularındaki metal birikimini araştırmıştır. Çalışma sonunda, Cu+Zn karışımının etkisinde solungaç dokusundaki Zn birikimi istisna edilirse, maksimum Cu ve Zn birikimi karaciğerde olurken, minimum birikim kas dokusunda meydana gelmiştir. Karışımın etkisinde doku ve organlardaki Cu ve Zn birikimi, metallerin tek tek etkisinden saptanan birikimden düşük seviyede olmuştur.

Çoğun vd. (2003), balık büyüklüğünün dokulardaki bakır ve kadmiyum birikimine etkisini inceledikleri çalışmada, ortalama uzunluğu 10-11 cm ve 17-19 cm olan *O. niloticus*'u 30 gün süreyle 0,1 ve 1 mg/L bakır ve kadmiyuma maruz bırakmışlardır. Tüm dokularda, bakır ve kadmiyum birikimi, orta ve 30 günlük maruz kalma süresinin sonunda artan bakır ve kadmiyum konsantrasyonları ile önemli bir artış göstermiştir. Konsantrasyonlardaki on katlık bir artış, doku birikiminde 1,5-2 kat artışa neden olmuştur. Her iki maruz kalma konsantrasyonunda, bakır dokuda her zaman en yüksek seviyelerde birikmiştir. Bunun nedeni; bakır, muhtemelen protein içerisinde bulunan disülfür grubu yoluyla metalotiyonin ve metaloenzimler karmaşık türler oluşturmak için dokuda depolanmıştır. Test edilen tüm konsantrasyonlarda, hem bakırın hem de kadmiyumun birikimi büyükten küçüğe doğru karaciğer, solungaç, kas şeklinde olmuştur. Balıklardaki karaciğerlerin kirlenici maddeler için bir biyoindikatör organ

olarak uygun olduğu kabul edilmiştir. Bu muhtemelen, karaciğerin çeşitli türlerden kirlenici maddeleri çevrelerinden daha yüksek seviyelerde biriktirme eğilimine bağlanabilir.

Vineeta vd. (2007), *Channa punctatus* yetişkinlerini 96 saat boyunca ayrı ayrı çinko (18,62 mg/L), kadmiyum (11,8 mg/L) ve bakır (0,56 mg/L) metallerinin LC<sub>50</sub> konsantrasyonlarına maruz bırakarak dokulardaki birikimleri inceledikleri çalışmada metallerin konsantrasyonunu karaciğerde maksimum ve kaslarda minimum olarak tespit etmişlerdir. Beş doku arasındaki birikim derecesi farklılık göstermiş ve sırasıyla: Zn maruz bırakmasında, solungaç> karaciğer> böbrek> kan> kas, Cd maruz bırakmasında, solungaçlar> böbrek> kan> karaciğer> kas ve Cu maruz bırakmasında solungaç> böbrek> kan> karaciğer> kas olarak belirlemişlerdir.

Cirillo vd. (2012), yaptıkları çalışmada, çipurayı (*Sparus aurata*) 11 gün boyunca 0,1 mg/L kadmiyuma maruz bırakarak, Cd birikim yollarını araştırmışlardır. Deneyin sonucunda en çok metal birikiminin olduğu organlardan solungaç ve karaciğerlerde ortalama Cd konsantrasyonları sırasıyla 209,4 ve 371,7 µg/g olarak hesaplanmıştır. 11 gün boyunca kaslarda herhangi bir Cd birikiminin olmadığını bildirmişlerdir.

Souid vd. (2013), yaptıkları çalışmada, atomik absorpsiyon kullanılarak *Sparus aurata*'nın farklı dokularında Cd (0,5 mg/L)'un kısa süreli maruz kalması (2, 4 ve 24 saat) altında birikimini araştırmışlardır. Sonuçları farklı dokulardaki Cd birikiminin metale maruz kalma süresinin uzunluğuna bağlı olarak değiştiğini göstermiştir. Gerçekten de, en yüksek konsantrasyonları 24 saat sonra elde etmişlerdir. Dokulardaki Cd birikimlerini büyükten küçüğe doğru şu şekilde bulmuşlardır: Bağırsaklar, karaciğer, solungaç, dorsal kas. Bu sonuçlar, *Sparus aurata*'nın kadmiyuma (0,5mg/L) kısa süreli maruz kalmasının bağırsakta önemli bir metal birikiminine neden olduğunu göstermiştir.

Yeşilbudak ve Erdem (2014) kadmiyumun *Cyprinus carpio* ve *Oreochromis niloticus*'un solungaç, karaciğer, kas ve böbrek dokularındaki birikimi, kontrollü laboratuvar koşullarında 1, 15 ve 30 gün boyunca 0,5 mg/L kadmiyuma maruz kalan balıklarda incelenmiştir. Solungaç, karaciğer, böbrek ve kasta, *C. carpio* ve *O. niloticus*'un 1, 15 ve 30 gün boyunca metale maruz kalan dokularında kadmiyum

birikmesi, kontrol grubuna göre, *O. niloticus*'un kas dokusu hariç, anlamlı derecede arttığı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Cd birikiminde, maruz kalma sürelerinin artması ile birlikte genel bir artış gözlenmiştir. Her iki türde de böbreklerde en yüksek metal birikimi ve ardından karaciğer, solungaç ile kas dokuları izlemiştir. Karaciğer Cd birikimi *C. carpio*'da *O. niloticus*'a göre daha yüksek iken, metalin böbrek birikimi *O. niloticus*'ta *C. carpio*'dan daha yüksek bulunmuştur.

Qu vd. (2014), yaptıkları çalışmada kadmiyum, hidroksillenmiş çok duvarlı karbon nanotüpler (OH-MWCNT) ve bunların karışımının metal birikimi için test organizması olarak *Carassius auratus* balığını kullanarak incelemiştir. Balıklar, 3 ve 12 gün boyunca 0,1 mg/L Cd, 0,5 mg/L OH-MWCNT veya 0,1 mg/L Cd + 0,5 mg/L OH-MWCNT'ye maruz bırakılarak, daha sonra solungaç, karaciğer ve kasta Cd konsantrasyonlarını belirlemiştir. Deney süresi boyunca sürekli bir Cd birikimi gözlenmiştir. Dokularda Cd birikimi şu sırayla gerçekleştirilmiştir: 3 günde, solungaç>karaciğer>kas, 12 günde karaciğer>solungaç>kas. Cd+OH-MWCNT'lerin kombinasyonuna maruz kalan balık türünde Cd konsantrasyonları, 12 gün maruz kalmadan sonra her iki kimyasal maddeye tek e tek maruz kalanlardan önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur.

Melissa vd. (2016), kronik su kaynaklı bakır (Cu) ve kadmiyumun (Cd) dokuya özgü metal birikimi ve *Pimephales promelas*'ın üremesi üzerindeki etkilerini incelemek için 3 balık (1 erkek: 2 dişi) 21 gün boyunca belirtilen konsantrasyonlarda bakır ve kadmiyuma maruz bırakılmıştır [(i) kontrol (Cu veya Cd eklenmemiş), (ii) su kaynaklı Cu (75 g /L), (iii) su bazlı Cd (5 µg/L) ve (iv) Cu ve Cd karışımı (sırasıyla 75 ve 5 µg/L)]. Üreme çıktısının (kümülatif yumurta üretimi) Cu tarafından önemli ölçüde azaldığı, ancak Cd ile azalmadığı tespit edildi. Bununla birlikte, ilginç bir şekilde, su bazlı Cu ve Cd karışımına maruz kalan balıklarda herhangi bir yumurtlamanın meydana gelmediği belirtilmiştir. Genel olarak, hedef dokularda (solungaç, karaciğer, gonad ve karkas) hem Cu hem de Cd birikimi, Cu ve Cd karışımına maruz kalan balıklarda önemli ölçüde arttığı ve karaciğer dışında, hiçbir dokuda Cu ve Cd birikimi arasında bir etkileşim gözlenmediği bildirilmiştir. Dişi hepatik östrojen reseptörü genlerinin (ER-a ve ER-β) ekspresyonu, Cu ve Cd karışımına maruz kalan balıklarda en belirgin şekilde yükseldiği ve benzer şekilde, metalotiyoninin hepatik ekspresyonunun, en çok Cu ve Cd karışımına maruz kalan balıklarda önemli ölçüde

yukarı doğru düzenlendiği bildirilmiştir. Genel olarak, bu çalışma ile, kronik su kaynaklı Cu ve Cd maruz bırakılmasının, balıklarda üreme çıktısı üzerinde ilave bir etkiye neden olabileceği ifade edilmiştir.

Javed vd. (2016), üç balık türünü (*Channa marulius*, *Mystus seenghala* ve *Wallago attu*) 96 saat süreyle kadmiyuma maruz bırakarak dokulardaki birikimi incelemiştir. Akut deneylerin sonunda ölü balık organları (solungaç, böbrek, karaciğer, kaslar) Cd birikimi için analiz edilmiştir. Tüm balık türlerinin organları Cd biriktirme yeteneklerinde önemli farklılıklar göstermiştir. Bununla birlikte, *C. marulius*, dokularında Cd biriktirme kabiliyetini önemli ölçüde ( $p < 0.05$ ) daha yüksek bir şekilde göstermiştir, bunu *W. attu* ve *M. seenghala* izlemiştir. Balık organları arasında karaciğer ve böbrek, metalin akut maruz kalması sırasında Cd biriktirme kabiliyetine önemli ölçüde daha fazla sahip olduklarını göstermiştir. Bu çalışmanın, etçil balık türlerinin Pakistan'ın doğal su kütlelerinde sürdürülebilir bir şekilde korunmasına yardımcı olacağını belirtmişlerdir.

Sidoumou vd. (2005), güney Afrika Atlantik sahilinden farklı balık türlerinin dokularındaki iz element konsantrasyonlarını araştırdıkları çalışmada sariağz (*A. regius*) balığının kas ve karaciğerinde Cd, Cu ve Zn metallerini sırasıyla 0.005, 0.46 ve 8.63  $\mu\text{g/g}$  olarak tespit etmişlerdir.

Durrieu vd. (2005), Fransanın Gironde haliçinde 8 farklı balık türünde ağır metal kirliliklerini araştırdıkları makalede farklı boylardaki sariağz balığının farklı dokularındaki kadmiyum içeriğinin artan boy ile azaldığını tespit etmişlerdir. Ortalama 21 cm uzunluğunda olan balıkların kadmiyum içerikleri solungaçta 0.18, karaciğerde 1.28, kasta 0.007 ve böbrekte 0.74  $\mu\text{g/g}$  olarak tespit edilirken; ortalama 43 cm uzunluğundaki balıklarda bu değerler sırasıyla 0.13, 0.59, 0.08 ve 0.27  $\mu\text{g/g}$  olduğu bulunmuştur.

Carvalho vd. (2005), Portekiz'de tüketilen 10 ticari balık türünün kas dokusunda bazı esansiyel ve toksik elementlerin konsantrasyonlarını belirlemeyi amaçladıkları çalışmada sariağz hariç çalışılan bütün balık türlerinde stransiyumun rubidyumdan daha yüksek konsantrasyonda olduğunu tespit etmişlerdir. Sariağz balığının kas dokusunda bakır 1.0  $\mu\text{g/g}$ , kadmiyum 0.03  $\mu\text{g/g}$  olarak bildirilmiştir.



Saad (2013), Mısır da kültüre alınmış deniz balıklarında bakterilerin izolasyonu ve belirlenmesi ve ayrıca suda ve balık dokusunda bulunan ağır metaller arasındaki ilişkiyi incelemiştir. Bütün balıklarda ağır metal konsantrasyonları solungaçlarda kastan daha fazla birikim göstermiştir. Sarıağız balığında Zn, Cu ve Fe konsantrasyonları solungaç ve kas da müsaade edilebilir seviyeden daha düşük bulunmasına rağmen, Hg ve Pb'un tolere edilebilir seviyenin üstünde olduğu tespit edilmiştir. Cd ve Ni solungaçta izin verilebilir seviyenin üzerinde; kas dokusunda ise daha düşük tespit edilmiştir.

### 2.6.3. Bakır ve kadmiyumun antioksidan enzimlere etkileri

Lopes vd. (2001), ekotoksikolojik çalışmalarda antioksidan enzim aktivite ölçümlerinin önemini gösteren bir çalışma yapmışlardır. Bakır madeni alanında yaşayan endemik golyon balığının (*Leuciscus alburnoides*) karaciğerlerine çeşitli antioksidan enzimlerinin, süperoksit dismutazın (SOD) ve glutatyon S-transferazların (GST), bu enzimler üzerindeki ağır metallerin ve selenyum etkisini araştırmışlardır. Kirli alandan yakalanan balıklarda referans alan popülasyonlarına kıyasla daha yüksek hepatik bakır ve selenyum seviyeleri gözlenmiş ve bu durum çevresel izleme sonuçlarını yansıtmıştır. Gonad olgunlaşması ile ilişkili olabilecek her iki popülasyon için de çinko ve selenyum seviyelerinde bir mevsimsel dalgalanma gözlenmiştir. SOD aktivitesi önemli derecede bölgesel değişiklikler göstermediği, ancak muhtemelen *Leuciscus*'un yaşam döngüsü ile ilişkili mevsimsel bir değişiklik meydana geldiği ifade edilmiştir. GST aktivitesi ilkbahar hariç kirli alandaki balık popülasyonunda daha yüksek bulunmuş ve her iki bölge karşılaştırıldığında GST değişkenliği selenyum ve bakır düzeyleriyle ilişkilendirilmiştir. Artan GST aktivitesi muhtemelen bu balıkların bu elementlerin daha yüksek seviyelerine sürekli maruz kalmasına metabolik bir adaptasyon oluşturduğunu belirtmişlerdir.

Almeida vd. (2002), Nil tilapyasında, (*Oreochromis niloticus*) oksidatif stresin biyobelirteçlerin ve kadmiyuma maruz kalmada metabolik değişimlerini değerlendirmişlerdir. Bunun için balıklar 60 gün boyunca suda 0.35, 0.75, 1.5 ve 3.0 mg/L konsantrasyonlarında Cd<sup>2+</sup> (CdCl<sub>2</sub>)'ye maruz bırakılmıştır. Kadmiyuma maruz kalan yaşayan balıklar, vücut ağırlığının artması için metabolik bir değişim ve telafi edici bir gelişme göstermiştir. Beyaz kasta glikoz alımında azalma ve glikojen

içerisinde düşüş gözlenmiştir. Laktat dehidrojenaz (LDH) ve kreatin fosfokinaz (CK) aktiviteleri de azalmıştır. Bu durum dokulardaki glikolitik kapasitenin azaldığını göstermektedir. Kadmiyuma maruz kalması nedeniyle beyaz kastaki toplam protein muhtevasında herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Bu sonuç karbonhidrat metabolizmasının metabolik olarak kas protein rezervinin korunduğunu göstermektedir. Kadmiyuma maruz kalan balıkların kırmızı kasında glikoz ve CK aktivitesinde artış ve LDH aktivitesinde belirgin bir artış olmuştur. Lipoperoksit konsantrasyonunda hiçbir değişiklik gözlenmediğinden, karaciğerde ve kadmiyuma maruz kalan balıklarda kırmızı ve beyaz kaslarında antioksidan enzimler glutatyon peroksidaz (GPx) ve süperoksit dismutaz (SOD) değişmiştir. Oksijensiz radikallerin kadmiyum toksisitesinin bir sonucu olarak üretildiği sonucuna varmışlardır. Direnç gelişimi, lipoperoksit oluşumunu engelleyen kadmiyum hasarına karşı korunmada önemli olan antioksidan enzimlerin aktivitelerinin artmasıyla ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir.

Hansen vd. (2006), metal sebepli oksidatif stresi içeren proteinler ve enzimler için gen transkripsiyonunun indüksiyonunu, Orta Norveç, Røros bölgesinde Cu ile kontamine olmuş bir nehre transfer edilen kahverengi alabalıkta incelenmiştir. Metalotiyonin (MT), Cu/Zn-süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyonperoksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GR) gen transkripsiyonuna ek olarak, SOD ve CAT'ın enzim aktivitelerinin protein seviyeleri solungaç, karaciğer ve böbrekte analiz edilmiştir. Solungaçlarda MT protein seviyelerinde bir artış gözlenmemiştir. SOD ve CAT enzim düzeyleri, maruz kalma sırasında tüm dokularda etkilenmiştir. Solungaçlarda SOD ve CAT aktiviteleri arasında negatif bir korelasyon gözlenmiştir. Bu enzimlerin aktivitelerinin sadece transkripsiyondan etkilenmediği düşünülmektedir. GPx ve GR transkripsiyon seviyeleri solungaçlarda ve karaciğerde pozitif olarak korelasyon göstermiştir. MT seviyeleri ve metal kaynaklı oksidatif stres ile ilgilenen SOD ve CAT aktivitesinin sadece gen transkripsiyonu ile değil, aynı zamanda translasyon sonrası mekanizmalar yoluyla da düzenlendiği bildirilmiştir.

Vlahogianni vd. (2007), Yunanistan'ın Saronikos Körfezi'ndeki, yerli midyeleri üç kirliliğe ve kirlenmemiş bir alanda ağır metal kirliliğini izlemek için kullanmıştır. Antioksidan savunma enzimlerinin, süperoksit dismutazın (SOD) ve katalazın (CAT) ve ayrıca lipid peroksidasyon (LP) aktivitesinin mevsimsel değişimleri,

solungaçlarındaki iz metallerinin konsantrasyonlarına bağlı olarak üç yıllık bir süre içinde biyolojik belirteçler olarak ölçmüşlerdir. SOD aktivitesinin kirli sahalarda kontrol bölgesine kıyasla en az 2 kat arttığını belirlemiştir (yüksek aktivite bahar döneminde kaydedilmiştir). CAT etkinliği kirli bölgelerde 2-3 kat artmış, kış ve ilkbahar mevsiminde ise kontrol alanına göre daha yüksek aktivite göstermiştir. LP konsantrasyonu ise aynı mevsimsel değişimi izleyerek kirli bölgelerde iki kat daha yüksek bulunmuştur. Kirilenmiş alanlardan toplanan midyelerde bulunan iz metal içerikleri, kontrol bölgesine kıyasla 3-4 kat daha yüksek çıkmış ve aylar arasında ılımlı bir değişim göstermiştir. Elde edilen sonuçlar, Elefsis Körfezi'ndeki (en kirli kıyı bölgesi) metal kirliliğinin, hücrel oksidasyon oluşumu nedeniyle midye dokularında nispeten orta düzeyde oksidatif strese neden olduğunu göstermiştir. Alandaki ilk araştırma olan bu çalışmada, deniz kıyıları ekosistemlerinde uzun vadeli izleme için antioksidan savunma enzimlerinin ve LP konsantrasyonlarının midyelerde mevsimsel değişimlerinin, potansiyel toksisite belirteçleri olarak kullanılabilceği ifade edilmiştir.

Varo vd. (2007), kültür balıkçılığında rutin olarak kullanılan bakır sülfat banyosu işlemlerinin, çipuranın (*Sparus aurata*) erken yaşam evrelerinin önemli fizyolojik fonksiyonlarını etkileyip etkilemediğini araştırmışlardır. Fingerling'ler (80-90 günlük,  $0.27 \pm 0.06$  g), 24 saat boyunca 0, 0.25, 0.5 ve 1.5 mg/L konsantrasyonlarında bakır sülfat banyolarına maruz bırakıldı. Santral sinir fonksiyonu üzerindeki etkiler, beyin asetilkolin esteraz aktivitesinin (AChE) analiz edilmesi ile değerlendirilmiş, öteyandan oksidatif stres ise, lipit peroksidasyonunun (LP) miktarıyla değerlendirilmiştir. *S. aurata* fingerlinglerinin bakır sülfata maruz bırakılması, artmış lipit peroksidasyonuna neden olmuştur. Buna karşılık, AChE aktivitesi, HSP70 seviyeleri, RNA/DNA oranı veya GST aktivitesinde ise önemli bir değişiklik olmamıştır. Özellikle, GST aktivitesindeki cevabın yokluğu, en yüksek dozlarda (peroksidasyon seviyeleri ile kanıtlanan) tedavilerden kaynaklanan sınırlı hasar miktarına işaret eder, çünkü bu enzim redoks siklik ürünleri içeren detoksifikasyon işlemlerinde doğrudan yer alır. Sonuçlar, test edilen koşullarda bakır sülfat banyolarının *S. aurata* fingerlingleri için güvenli tedaviler olduğunu göstermiştir.

Ferreira vd. (2008), metallerin çevresel olarak her yerde bulunduğunu belirterek, deniz suyunda yüksek konsantrasyonlarda ve ardından deniz organizmalarında ölçülebileceğini ifade etmişlerdir. Ayrıca redoks potansiyeli yüksek metaller biyolojik dokularda zararlı etkileri olan oksidatif stres mekanizmalarını tetikleyebileceğini ve sucul türlerde, oksidatif stres, dokulardaki antioksidan enzim aktivitelerini ve oksidatif hasarlarının belirlenebileceğine vurgu yapmışlardır. Karaciğer ve kastaki metal kalıntılar (Cu, Cd, As ve Pb) ayrıca oksidatif stres biyobelirteçleri, kültür koşullarında ve doğal numunelerde, market boyunda *D. sargus*'un yaşam döngüsündeki farklı aşamalarında değerlendirmişlerdir. Dokulardaki metal konsantrasyonları düşük ve belirlenen sınırların altında bulmuşlardır. Bununla birlikte doğal *D. sargus*'un kültür örneklerine göre daha fazla metal birikimine sahip olduğu görülmüştür. Katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) diye isimlendirilen antioksidan enzimler metal birikimi ile ilişkilidir. Dokularda oksidatif hasarlar düşük olup, doğal *D. Sargus* örneklerinde kültür balıklarına nazaran daha düşük seviyelerde hasar görülmüştür. Anılan çalışmalarına göre, *D. sargus*'un, metallerin varlığından kaynaklı dokulardaki oksidatif hasarları azaltabilen iyi bir antioksidan savunma sistemine sahip olduğu görülmüştür.

Pandey vd. (2008), toksik etkilerinin bireysel olarak değerlendirilmesi, biyolojik süreçler üzerindeki etkilerinin gerçekçi bir tahminini ortaya koymadığını belirterek dört temel ve toksik metal karışımının (Cu, Cd, Fe ve Ni) çevresel konsantrasyonlarını kullanarak tatlı su balığı *Channa punctata*'nın solungaçlarının biyokimyasal ve morfolojik özellikleri üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Çalışmaya göre balıklar, 7, 15 ve 30 gün boyunca tank sularında metal karışımına maruz bırakılmıştır. Yapısal değişikliklerin yanı sıra, katalaz (CAT), glutatyon S-transferaz (GST) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan enzimlerin aktiviteleri maruz kalan balıkların solungaçlarında önemli ölçüde değişmiştir. Azalan glutatyon (GSH) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde ( $p < 0.001$ ) azalırken, lipid peroksidasyon (LPO) anlamlı olarak ( $p < 0.001$ ) artmıştır. Bu çalışmanın sonuçları, iz metallerin karışımına maruz kalan balık solungaçlarında toksik etkilerin yanı sıra adaptif olduğunu da göstermiştir. İz metalin düşük konsantrasyonları solungaçların antioksidan savunmasını tehlikeye atar gibi görünmektedir. Düşük konsantrasyonlu iz metallerin etkisinin neden olduğu solungaç morfolojisindeki lezyonlar, fonksiyonel değişikliklere ve maruz kalan balık

popülasyonlarında osmoregülasyonun korunması, gaz değişimi ve ksenobiyotik metabolizması gibi temel işlemlerle etkileşime neden olduğu sonucuna varılmıştır.

Messaoudi vd. (2009), *Salaria basilisca*'nın kadmiyum (Cd) kontaminasyonuna duyarlılığını test ettikleri çalışmada, Cd ile kontamine olmuş su (CdCl<sub>2</sub> olarak 2 mg Cd/L) içerisinde 14 ve 28 gün boyunca maruz bıraktıkları *S. basilisca*'nın karaciğerinde, karaciğer somatik indeksi (LSI), Cd birikimi, katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini ölçmüşlerdir. Sonuçlar, LSI'nin 14 ve 28 günlük Cd maruziyetinden sonra önemli ölçüde azaldığını göstermiştir. Karaciğerdeki Cd biyoakümüülasyonu, 28 gün maruz kaldıktan sonra 42 g/g kuru ağırlığa kadar artan bir alımla sonuçlanmıştır. CAT ve SOD aktiviteleri, maruz kalma süresinin artmasıyla birlikte önemli ölçüde artmıştır. Cd etkisi altında GPx aktivitesinde anlamlı bir artış, 14 günlük maruz kalma süresi boyunca gözlenmiştir (p <0.001). Bununla birlikte, kontrol balıklarına göre bu aktivitede önemli bir düşüş (p <0.05), 28 günlük Cd maruziyetinden sonra kaydedilmiştir. Bu sonuçlar, *S. basilisca*'nın karaciğerinde Cd birikiminin, antioksidan enzim aktivitelerindeki değişikliklerle gösterildiği gibi oksidatif strese neden olabileceğini göstermiştir. Sonuçlar ayrıca, *S. basilisca*'nın Cd maruziyetine duyarlı bir tür olarak değerlendirilebileceğini göstermiştir.

Cao vd. (2010), Cd maruz bırakılmasının erken dönemlerde Japon pisi balığında (*Paralichthys olivaceus*), oksidatif biyobelirteçlerin nasıl etkilendiğini araştırmışlardır. Balıklar, embriyonik dönemden juvenil evrelere kadar 80 gün boyunca su bazlı kadmiyuma (0-48 µg/L) maruz bırakılmıştır. Araştırmacılar büyüme, Cd birikimi, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon S-transferaz ve glutatyon (GSH) ile lipid peroksidasyon seviyelerini (LPO) üç gelişim evresinde incelemiştir. Cd konsantrasyonu arttıkça pisi balığındaki Cd birikimi artmış. Metamorfoz larvalarında, Cd konsantrasyonlarını artırarak, LPO yükselirken, CAT ve SOD aktiviteleri inhibe edilmiş ve GSH seviyesinde yükselme olmuştur. CAT ve GST yerleşme larvalarının aktiviteleri engellenmiştir. Ancak GSH seviyesi, yüksek Cd konsantrasyonlarında artmıştır. Juvenillerde, SOD aktivitesi ve LPO seviyesi artmasına karşın, GST aktivitesi Cd konsantrasyonu arttıkça inhibe edildiği görülmüştür. Erken dönemde pisi balığı içindeki antioksidanlar oksidatif strese karşı savunmak için yumuşak tepkiler geliştirebilmişlerdir, buna karşın kadmiyuma maruz kalma nedeniyle LPO'nun

ölümcül olduğu bildirilmiştir. Bu biyokimyasal parametrelerin, deniz ortamlarında Cd kontaminasyonunu ve toksisitesini değerlendirmek için etkili oksidatif biyobelirteçler olarak kullanılabilmesi belirtilmiştir.

Sevcikova vd. (2011), metallerin balıklarda oksidatif stres gelişimine katkısı konusundaki güncel bilgileri derleyerek özetlemiştir. Metallerin suda yaşayan organizmalardaki önemli oksidatif stres indükleyicileri ve iki mekanizma yoluyla reaktif oksijen türlerinin oluşumunu teşvik ettiklerini ifade etmişlerdir. Redoks aktif metalleri redoks çevrimi yoluyla reaktif oksijen türleri üretirken, redoks potansiyeli olmayan metaller antioksidan savunmalarını, özellikle tiyol içeren antioksidanları ve enzimleri engellediği, reaktif oksijen türlerinin yüksek seviyeleri, lipid peroksidasyonu, protein ve DNA oksidasyonu ve enzim inaktivasyonu gibi oksidatif hasara yol açtığını belirtmişlerdir. Antioksidan savunmaları, enzim sistemini ve düşük moleküler ağırlıklı antioksidanları içerdiğinden, ferritin, seruloplazmin ve metalotiyoninler gibi metal bağlayıcı proteinler, toksik metallerin detoksifikasyonunda özel fonksiyonlara sahip olup, aynı zamanda esansiyel metallerin metabolizmasında ve homeostazında rol oynarlar. Biyobelirteçler olarak metalotiyoninlerin yakın zamandaki çalışmaları, metalotiyonin genlerinin mRNA ekspresyonunun kantitatif analizinin, yüksek metal seviyelerinde ve balık dokusunda oksidatif hasar kanıtı bulunmadığı durumlarda uygun olabileceğini belirtmişlerdir. Antioksidan savunmanın bileşenleri oksidatif stresin biyokimyasal belirteçleri olarak kullanıldığından, bu belirteçler, sahada veya laboratuvar çalışmalarında bulunan sonuçlardan farklı şekilde gösterilebileceğini ifade etmişlerdir.

Falfushynska vd. (2011), 14 gün maruz bırakmadan sonra kirlenmiş (B) ve kirlenmemiş (Z) bölgelerdeki *Carassius auratus gibelio* üzerindeki prooksidant bakır ( $Cu^{2+}$ , 0.005 ve 0.050 mg/L) veya mangan ( $Mn^{2+}$ , 0.17 ve 1.7 mg/L) etkisini belirlemişlerdir. B sahasından elde edilen balıklarda yüksek seviyelerde lipid peroksidasyonu, düşük seviyelerde metalotiyonin (MT) ile ilgili metal, toplam glutatyon (GSH), redoks indeksi, süperoksitdismutaz (Cu, Zn- ve Mn-SOD), glutatyon-S-transferaz (GST) ve kolin esteraz (ChE) aktiviteleri ve ayrıca karaciğer ile solungaçlarda daha yüksek MT ile ilişkili tiyol konsantrasyonu gözlemlemiştir. Maruz kalmanın yaygın bir etkisi, genotoksite, GSH'de azalma ve karaciğerde mikrozomaletoksiresorufin O-deilaz aktivitesinde bir artış ile ilişkili olarak ifade

edilmiştir. Ancak, MT'lerin bu balıktaki duyarlılığı bozulurken, oksidatif stres ve biyotransformasyon sistemlerinin kirli alandaki balıklarda daha etkili olduğu bildirilmiştir.

Trivedi vd. (2012), su ürünleri endüstrisinde genel bir biyosit olarak ve ev akvaryumlarında bir tedavi seçeneği olarak sıklıkla kullanılan bakır sülfat uygulamaları sırasında ortaya çıkan oksidatif stresi anlamak için artan bakır sülfat pentahidrat ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) konsantrasyonlarına 24 saat maruz bıraktıkları *Carassius auratus* karaciğerindeki etkisini araştırmıştır. Balıklar bakır sülfat pentahidrat'a maruz bırakılarak MDA seviyeleri, glutatyon (GSH) ve toplam askorbik asit içeriği ile enzimatik göstergeleri (glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz) incelenmiştir. 24 saat değişik dozlarda (0.1, 0.5, 1.0 ve 1.5) bakır sülfat pentahidrata maruz kaldıktan sonra glutatyon-s-transferaz (GST), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri karaciğerde ölçülmüştür. Sonuçlar, 0,1 mg/L dozaj seviyesinde, sadece MDA seviyelerinde, toplam askorbik asit içeriğinde, CAT, SOD, GPx aktivitelerinde önemli değişikliklerin elde edildiğini ve kontrol ile karşılaştırıldığında diğer parametrelerde anlamlı olmayan değişikliklerin elde edildiğini belirtmişlerdir. Bununla birlikte, 0,5-1,5 mg/L dozaj seviyesinde tüm parametreler, bakır sülfatın *Carassius auratus*'un ömrünü azaltabilecek ve popülasyonda erken ölüme yol açabilecek önemli oksidatif strese neden olduğunu doğrulayan kontrole kıyasla önemli değişiklikler gösterdiği bildirilmiştir. Bu nedenle, 0.1 mg/L bakır sülfat konsantrasyonunun, akvaryumlarda tedavi için uygulanan diğer yüksek konsantrasyonlardan daha güvenilir olduğu ifade edilmiştir.

Cirillo vd. (2012), çipurayı (*Sparus aurata*) 11 gün boyunca 0,1 mg/L kadmiyuma maruz bırakarak, lipid oksidasyonunu ve antioksidan savunma tepkisini araştırmışlardır. Glutatyon (GSH) konsantrasyonları ve GSH redüktaz ve GSH peroksidazın antioksidan enzim aktiviteleri genel bir azalma eğilimi göstermiştir. Ek olarak, lipid ve sulu hidroperoksit seviyeleri önemli bir değişiklik göstermemiştir. Cd tarafından dolaylı olarak üretilen oksidatif stres, hücrel hasarı azaltmak için uyarlanmış farklı biyokimyasal sistemler tarafından denkleştirilmiştir. Dokulardaki Cd birikiminin olumsuz etkilerinin muhtemelen MT'nin indüksiyonu ile telafi edildiği fikri açıklanmıştır.

Souid vd. (2013), *Sparus aurata*'nın farklı dokularında Cd (0,5 mg/L)'nin kısa süreli maruz kalması (2, 4 ve 24 saat) altında oksidatif stres biyobelirteçlerinin ve asetilkolinesteraz aktivitesinin (AchE) etkisini araştırmışlardır. 24 saat kadmiyum uygulamasına maruz kaldıktan sonra, katalaz aktivite (CAT), glutasyon düzeyi (GSH) ve malondialdehit üretiminin (MDA) arttığı, aksine, aynı metale maruz kaldıktan sonra AchE aktivitesinde ise bir azalma olduğu saptanmıştır. 4 saat sonra en yüksek seviyeye ulaşan süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi dışında, maruz kalmadan 2 ve 4 saat sonra oksidatif stress biyobelirteçlerinde önemli bir değişikliğin olmadığı görülmüştür. Bu sonuçlar, *Sparus aurata*'nın kadmiyuma (0,5mg/L) kısa süreli maruz kalmasının belirgin bir şekilde oksidatif stres tepkisini indüklediğini göstermiştir.

Qu vd. (2014), kadmiyum, hidroksillenmiş çok duvarlı karbon nanotüpler (OH-MWCNT) ve bunların karışımının antioksidan savunması üzerindeki etkileri için test organizması olarak *Carassius auratus* akvaryum balığını kullanarak incelemişlerdir. Balıklar, 3 ve 12 gün boyunca 0,1 mg/L Cd, 0,5 mg/L OH-MWCNT veya 0,1 mg/L Cd + 0,5 mg/L OH-MWCNT'ye maruz bırakılarak hepatik antioksidan enzim aktivitesi (süperoksit dismutaz, katalaz ve glutasyon peroksidaz), glutasyon seviyesi ve malondialdehit içeriğini de ölçmüşlerdir. Karışım, SOD, CAT ve GPx aktivitesinin önemli inhibisyonu, GSH seviyesinde göze çarpan bir azalma ve eşzamanlı MDA içeriğinin gösterdiği gibi, maruz kalan balıkta ciddi derecede oksidatif stres oluşturmuştur. Bu sonuçlar, birleşik faktörlerin metal birikimi ve oksidatif stres biyobelirteçleri üzerindeki etkisinin, daha uzun maruz kalma sürelerinde, tek faktörlerden daha belirgin olduğunu bildirmişlerdir.

Ransberry vd. (2015), tatlı suda bakır toksisitesinin temel mekanizmasının çoğu karakterize edilmiş olmasına rağmen, deniz suyundaki toksisite mekanizmasının daha tam anlamıyla anlaşılmadığını ifade etmişlerdir. Çalışmalarında ergin *Fundulus heteroclitus* bireylerinde tuzluluğun Cu ile indüklenen oksidatif stres ve metabolik tepkiler üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu balıklar düşük bakır (50 µg/L) ve yüksek bakır (200 µg/L) konsantrasyonlarında deniz suyu ile tatlı suda 96 saat maruz bırakılmış ve bakır olmayan benzer tuzluluk konsantrasyonuna sahip kontrol grup ile karşılaştırmışlardır. Genel olarak, Cu solungaç, karaciğer ve bağırsakta katalaz enzim (CAT) aktivitesini artırırken, süperoksit dismutaz (SOD) doku tipine bağlı olarak ya azalmış ya da hiç değişmediğini belirtmişlerdir.



Zheng vd. (2016a), yaptıkları çalışmada kadmiyumun (Cd), suda yaşayan organizmalar ve bunların ekosistem birliği için ciddi risklere sahip çevresel bir kirlenici olduğunu ifade ederek; kadmiyumun neden olduğu oksidatif stres ve immüno toksisite altında yatan mekanizmaların büyük ölçüde bilinmediğine vurgu yapmışlardır. Öte yandan çalışmalarında, yetişkin dişi zebra balığı, 24 saat ve 96 saat boyunca 0 (kontrol), 1 mg/L kadmiyuma maruz bırakılmış ve Cd tarafından indüklenen oksidatif stres ve enflamatuar tepkiler, beyin, karaciğer ve yumurtalıkta değerlendirilmiştir. Cd uygulamasından sonra beyin ve karaciğerde reaktif oksijen türleri (ROT), nitrik oksit (NO) ve malondialdehit (MDA) zamana bağlı bir şekilde artmıştır. Bu artış, mRNA, protein ve aktivite seviyelerinde bakır ve çinko süperoksit dismutaz (Cu/Zn-SOD), katalaz (CAT), indüklenebilir nitrik oksit sentez ve siklooksigenaz-2 dahil olmak üzere genlerin bozulmasından kaynaklandığı belirtilmiştir. Yumurtalıkta ROT, NO ve MDA kadmiyumdan önemli derecede etkilenmemiş olmasına rağmen, Cu/Zn-SOD, CAT, indüklenebilir nitrik oksit sentez ve siklooksigenaz-2'nin üst regülasyonunun gözlemlendiği bildirilmiştir.

Zheng vd. (2016b), zebra balıklarının karaciğerindeki 5 hafta boyunca kronik Zn (180 µg/L) ve Cd maruz bırakılmasının (30 µg/L) büyüme, hayatta kalma, histoloji ve oksidatif stres üzerindeki etkilerini karşılaştırmışlardır. Büyüme performansı ve hayatta kalma oranı Zn stresi altında nispeten sabit kalırken, Cd'a maruz bırakılması altında azalma gösterdiğini tespit etmişlerdir. Kadmiyuma maruz bırakılması hepatositlerde önemli derecede lipit içeriğini indüklemiş ve ayrıca karaciğer hücrelerinde yağ içeriklerinde önemli değişimlere neden olmuştur. Ancak, bu durumların Zn'ya maruz bırakılması altında belirgin olmadığını ifade etmişlerdir. Kadmiyumun neden olduğu olumsuz etkiler, artan lipid peroksidasyon (LPO) ve protein karbonilasyon (PC) seviyelerinin yansıttığı gibi hepatik oksidatif hasardaki bir artışla açıklanmıştır. Cu/Zn-süperoksit dismutaz (Cu/Zn-SOD) ve katalazın (CAT) azaltılmış aktivitesi, artan hepatik oksidatif hasara yol açabileceği, ancak her iki genin mRNA ve protein seviyeleri sırasıyla arttığı ifade edilmiştir. Buna karşın, Zn, düşük LPO seviyelerine katkıda bulunabilecek olan mRNA, protein ve Cu/Zn-SOD aktivitesini yükseltmiştir. Bununla birlikte, keskin bir şekilde regüle edilen CAT mRNA seviyeleri, Zn stresi altında CAT'ın protein ve aktivite seviyelerinde bir artışa neden olmamıştır. Sonuç olarak; elde edilen veriler sonucunda, esansiyel ve esansiyel olmayan metallerin balıklarda oksidatif hasarlarda bazı farklılıklar yarattığını

göstermiştir. Bu farklılıkların ilgili genlerin transkripsiyon seviyesinden kaynaklanmadığı, ancak transkripsiyon sonrası değişikliklere bağlandığı saptanmıştır.

Juliana vd. (2016), bakırın akut maruz bırakılmasının etkilerini araştırdıkları çalışmada; *Prochilodus lineatus*'un yavrularını, 96 saat boyunca çevresel olarak ilgili su bazlı Cu konsantrasyonlarına (5, 9 ve 20 µg/L) maruz bırakarak, glutatyon-S-transferaz (GST), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, indirgenmiş glutatyon (GSH) ve lipid peroksidasyon (LPO) seviyesini belirlemiştir. Test edilen herhangi bir Cu konsantrasyonuna maruz kalan balıklar, karaciğer MT konsantrasyonunun ve LPO seviyesinin arttığını, balık başına eritrositlerde daha yüksek sayıda hasarlı nükleotidin olduğunu göstermiş ve kas AChE aktivitesini inhibe etmiştir. Ayrıca, 9 ve 20 µg/L Cu'ya maruz kalan balıklarda karaciğer SOD aktivitesinde artış gözlemlendiği, 5-9 µg/L Cu değerine maruz kalan balıkların daha az yüzme süresi geçirdiği bildirilmiştir. 9 µg/L bakıra maruz kalan balıklar, artan yüzüş mesafesi ve hızı gösterirken, 20 µg/L bakıra maruz kalanların yüzme mesafeleri ve hızları daha düşük bulunmuş, bunun yanı sıra, kontrol grubunda su sütununun alt tabakasında yukarılara kıyasla daha az zaman geçirdikleri ifade edilmiştir. Bu bulgular, bakırın çevresel olarak ilgili konsantrasyonlarda (mevcut Brezilya su kalitesi kriterlerinin altında veya yakınında) maruz kalmasının neotropik balık *P. lineatus*'ta önemli biyolojik (histolojik, biyokimyasal ve genetik) ve ekolojik (yüzme ve keşif kabiliyetleri) zararlar verdiğini göstermiştir. Ayrıca, MT konsantrasyonu, DNA hasarı (kuyruklu yıldız tahlili), LPO, SOD ve AChE aktivitesinin, yüzme davranışı analizleri ile birlikte, Cu'dan tatlı suda etkilenen alanları değerlendirmek ve izlemek için potansiyel biyolojik işaretleyiciler olduğunu öne sürmüşlerdir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Yararlanılan Alet ve Cihazlar

Çalışmalar esnasında aşağıdaki alet ve cihazlardan faydalanılmıştır.

Oksijenmetre: YSI

pHmetre: YSI

Soğutmalı Santrifüj: Hettich micro 22V

Santrifüj: Nüve

Homojenizatör: IKA

Spektrofotometre: Hach DR6000 Uv-Vis

Karıştırıcı: Vortex, Isolab

Hassas Terazi: AND

Otomatik pipetler: Eppendorf

Manyetik Karıştırıcı: Isolab

Saf su cihazı: Isolab

Ultra saf su cihazı: Millipore Q3

Mikrodalga fırın: Berghoff MWS-2

ICP-MS: Perkin Elmer

#### 3.2. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması:

Araştırma süresince kullanılan çözeltilerin kullanılış yerleri ve hazırlanış şekilleri aşağıdaki gibidir (Kuru, 2007).

1. Fosfat Tamponu (pH:7.4; 50mM) (Doku homojenizasyonunda): 5,3398 gram  $K_2HPO_4$  ve 2,6322 gram  $KH_2PO_4$  tartılıp deiyonize su içerisinde çözdürüldü ve hacmi 1 L'ye tamamlandı.

2. % 10'luk Trikloroasetik asit (TCA) Çözeltisi (Malondialdehit Tayininde): 10 g TCA tartılarak 100 ml'lik balon jöjeye alındı ve 100 ml deiyonize su içerisinde çözdürüldü.

3. % 0.675'lik Thiobarbutirik asit (TBA) Çözeltisi (Malondialdehit Tayininde): 0,675 gram TBA tartılarak 100 ml'lik balonjojeye konuldu ve 100 ml deiyonize su içerisinde çözdürüldü.

4. bis1,1,3,3-tetraetoksi propan çözeltisi, 1 mM, (MDA tayininde standart olarak): Yoğunluğu 0,919 g/L olan %96'lık MDA standart çözeltisinden (4 M) önce 1 ml alınıp 50 ml ye tamamlandı. Daha sonra bu ara stoktan (0,8 M) 0,625 ml alınarak 50 ml ye tamamlanarak 1mM'lık stok MDA standardı hazırlandı.

5. standart sığır albumin (BSA) çözeltisi, 1 mg protein/1 ml (Protein Tayininde standart olarak): 100 mg protein hassas bir şekilde tartılarak balonjojeye alınır ve deiyonize su içerisinde çözdürüldükten sonra 100 ml ye tamamlanarak hazırlandı.

6. Coomassie brilliant blue G-250 renk reaktifi (Proteinlerin kantitatif tayininde kullanılan çözelti): 100 mg coomassie brilliant blue G-250, 50 ml % 95'lik etanolde çözüldü. Bu çözeltiye % 95 lik 100 ml fosforik asit ilave edildi. Çözeltinin hacmi deiyonize su ile 1 litreye tamamlandı.

7. Fosfat Tamponu (pH:7; 50mM) (Katalaz Aktivite Tayininde): 3,3686 gram  $K_2HPO_4$  ve 4,1722 gram  $KH_2PO_4$  tartılıp deiyonize su içerisinde çözdürüldü ve hacmi 1 L'ye tamamlandı.

8.  $H_2O_2$  Çözeltisi (Katalaz Aktivite Tayininde): % 35 (V/V)'lik  $H_2O_2$  çözeltisinden 0,170 ml alınarak 100 ml'lik balonjojeye alındı ve fosfat tamponu (ph 7) ile hacim 100 ml ye tamamlandı.

9. 1 mM KCl çözeltisi (0,01 M HCl içeren) (6-OHDA'in çözücüsü- SOD Aktivite Tayini): 0,03725 g KCl suda çözüldü ve 0,440 mL derişik HCl (% 35'lik, d=1,184 g/mL) ilave edildi, hacmi suyla 500 mL'ye tamamlandı.

10. 0,01 M 6-OHDA Çözeltisi (SOD Aktivite Tayininde): 0,005 g 6-OHDA 2 ml 1 mM'lık KCl çözeltisinde çözüldü. KCl çözeltisi azot gazıyla doyuruldu.

11. 0,05 M pH 7,4 Fosfat Tamponu (SOD Aktivite Tayininde): 1 Tablet PBS suda çözülerek hacmi 40 mL'ye tamamlandı.

12. GPT Substratı (GPT Aktivite Tayininde): 0.0336 g  $\alpha$ -ketoglutarik asit (2 mM/L) ve 1.78 g DL-alanin (200 mM/L) tartıldı ve küçük bir behere konularak tamamen çözülünceye kadar 1 N NaOH ilave edildi. pH:7.4'e ayarlandı. 0.1 M Fosfat tamponu ile 100 mL'ye tamamlandı.

13. Piruvat Standart Çözeltisi (GPT aktivite tayininde standart eğri oluşturulmasında kullanılan çözelti): 0.022 g sodyum piruvat (2mM/L) 0.1 M Fosfat tamponunda çözülerek 100 mL'ye tamamlandı.

14. 1 mM/L 2,4-DNPH (GPT Aktivite Tayininde): 0,0198 g 2,4-DNPH 1 N HCl ile çözülerek 100 mL'ye tamamlandı.

15. 1 N NaOH Çözeltisi (pH ayarlamalarında kullanılan çözelti): 40 g NaOH bir miktar suda çözülerek son hacmi 1 litreye tamamlandı.

16. 0.4 N NaOH Çözeltisi (GPT aktivite tayininde): 16 g NaOH bir miktar suda çözülerek son hacmi 1 litreye tamamlandı.

17. 1 M Tris, 5 mM EDTA (pH:8) Çözeltisi (G6PD enzim aktivite tayininde kullanılan tampon): 6,05 g (0,05 mol) Tris ve 0,0605 g EDTA ( $2,5 \times 10^{-4}$ mol) alınarak bir miktar deiyonize suda çözüldü. pH, HCl ile 8'e ayarlandı. Daha sonra toplam hacim deiyonize su ile 50 ml'ye tamamlandı.

18. 0,1 M  $MgCl_2$  Çözeltisi (G6PD enzim aktivite tayininde kullanılan aktivatör): 0,475 g  $MgCl_2$  ( $5 \times 10^{-3}$ mol) alınıp bir miktar suda çözüldü. Hacmi deiyonize su ile 50 ml'ye tamamlandı.

19. 2 mM  $NADP^+$  Çözeltisi (G6PD enzim aktivite tayininde): 0,0765 g  $NADP^+$  ( $1 \times 10^{-4}$ mol) alınıp çözüldü. Hacmi deiyonize su ile 50 ml'ye tamamlandı.

20. 6 mM G6DP-Na Çözeltisi (G6PD enzim aktivite tayininde kullanılan substrat): 0,091 g G6PD-Na ( $3 \times 10^{-4}$  mol) alınıp çözüldü. Hacmi deiyonize su ile 50 ml'ye tamamlandı.

### 3.3. Toksikite Denemeleri

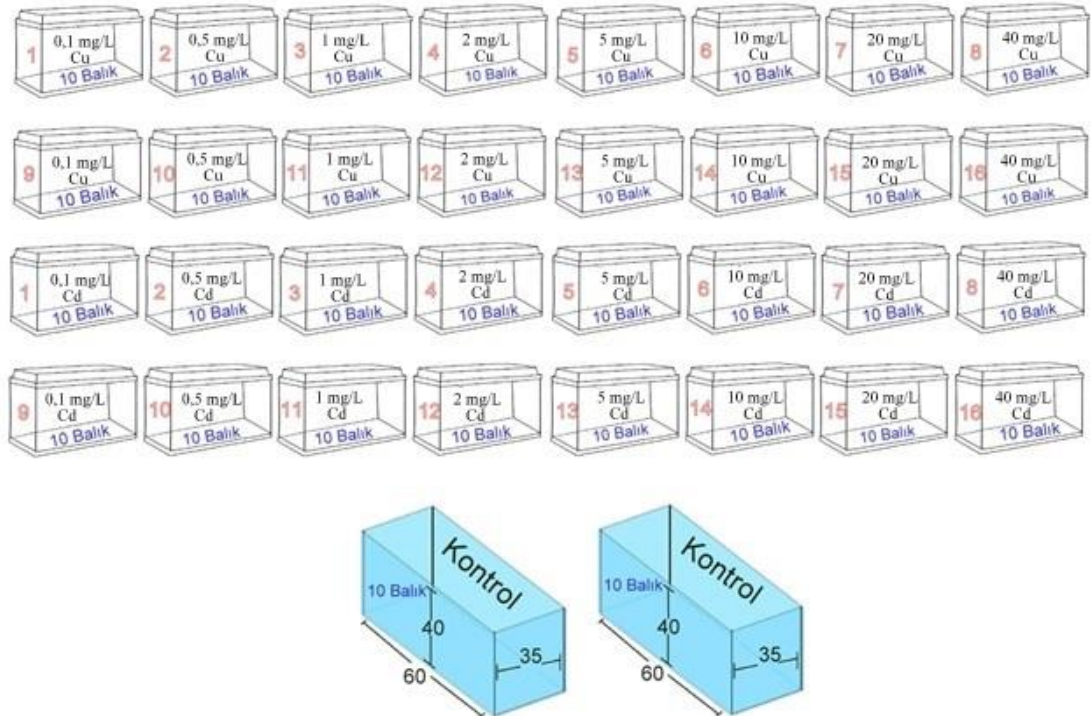
Araştırmada deneme materyali olarak kullanılan sariağız balıkları (*Argyrosomus regius*) Kılıç Holding'den temin edilerek kontrollü ortam koşullarındaki laboratuvara getirilip, önceden hazırlanan akvaryumlara yerleştirilmiştir (Şekil 3.1). Akut ve kronik denemelerden önce, içerisinde % 38'lik ultraviyolede geçirilmiş deniz suyu bulunan 40x60x35 cm boyutlarındaki 60 L'lik cam akvaryumlarda 15 gün bekletilerek balıkların ortam koşullarına alışmaları sağlanmıştır. Denemeler Akdeniz Su Ürünleri Araştırma Üretim ve Eğitim Enstitüsü Müdürlüğü Kepez birimi akvaryum ünitesinde yürütülmüştür. Akut ve kronik deneyler merkezi havalandırma sistemi ile havalandırılan  $20 \pm 1$  °C sıcaklıklarda, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık fotoperiyod uygulaması ile yapılmıştır. Denemelerde; balıkların maruz bırakılması planlanan çözeltilerin hazırlanmasında, kadmiyum klorür monohidrat ( $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) ve bakır sülfat pentahidrat ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) tuzları kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Toksikite denemelerine ait bazı resimler

### 3.3.1. Akut toksisite denemeleri

İki tekrarlı olarak yürütülen olan kadmiyum ve bakır akut toksisite denemelerinde; her iki metal için de 8 farklı konsantrasyon ve bir kontrol grubu olacak şekilde tasarlanan akvaryumlara, ortalama uzunluğu 12 cm olan 10 ar adet balık konulmuştur (Şekil 3.2). Balıklar, Cu ve Cd için 4 gün süreyle 0.1 mg/L'den başlanılarak 0.50, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0, 20.0 ve 40.0 mg/L konsantrasyonlardaki metal maruziyetine bırakılarak akut konsantrasyonlar tespit edilmiştir. Deneme süresince balıklara yem verilmemiş ve her kaba konulan bireyler, konulduktan 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 ve 24 saat sonra izlenmiş, aynı zamanda bu dönemlerin bitimindeki 12 saatlik sürelerde de gözlemlenmiştir. Deneme boyunca suyun fiziko-kimyasal parametreleri kontrol edilerek, deneme gruplarında saatlik ve günlük ölümler ile morfolojik gözlemler kaydedilmiştir. Akut toksisite testi, oksijen takviyeli statik biyo-deney (O-SBD) olarak gerçekleştirilmiş ve LC<sub>50</sub> değerleri probit analiz yöntemiyle belirlenmiştir (OECD, 1992: Zahedi'den, 2012; Çetinkaya, 2015). Akut toksik konsantrasyon (LC<sub>50</sub>) belirlendikten sonra sublethal konsantrasyonlar kronik metal maruz bırakma denemelerinde kullanılmıştır.

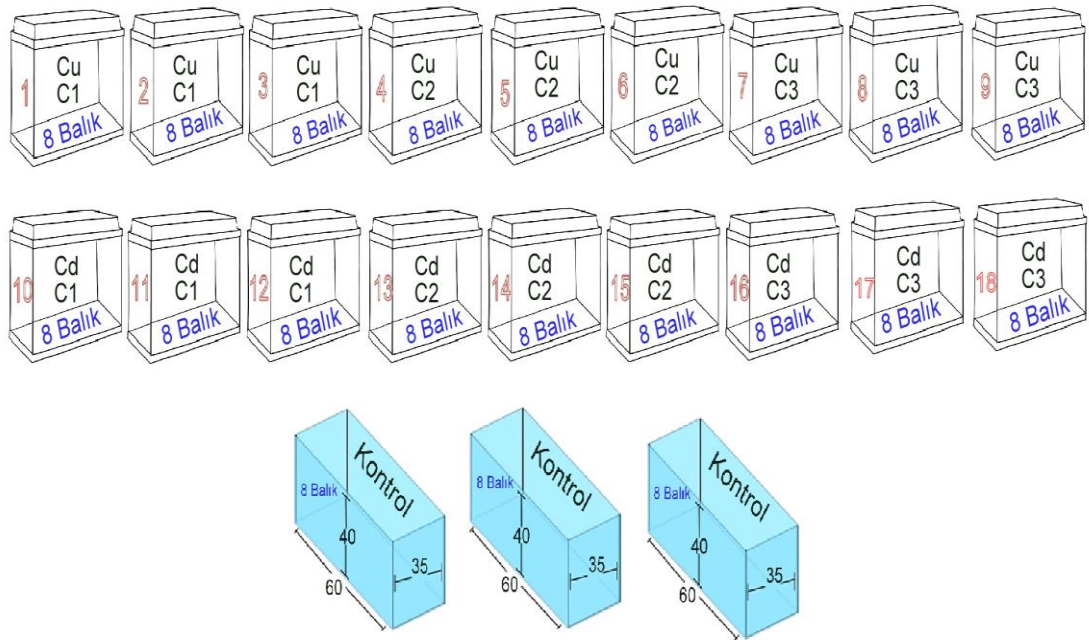


Şekil 3.2. Akut toksisite deneme düzeneği

### 3.3.2. Kronik toksisite denemeleri

Kronik denemelerde; bakır ve kadmiyum için 3 farklı subletal konsantrasyon, LC<sub>50</sub> nin belli oranları dikkate alınarak oluşturulmuş ve kontrol grubu olarak % 38'lik temiz deniz suyu kullanılmıştır. Kontrol grubu ile birlikte toplam 7 grup olan denemeler 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür. Bu denemelerde 9 bakır, 9 kadmiyum ve 3 kontrol grubu olacak şekilde hazırlanan 40x60x35 cm boyutlarındaki toplam 21 adet cam akvaryumun her birisine ortalama 13 cm uzunluğundaki 8 er adet balık konulmuştur (Şekil 3.3).

Denemeler yarı statik (1/3 su değişimi/gün) biyo-deney düzeninde yapılmıştır. Denemenin her gününde balıkların davranışları gözlemlenmiş ve ölen ya da ağır biçimde etkilenen balık varsa bunlar denemeden çıkartılmıştır. Balıklar, günde bir kez vücut ağırlığının % 2' si kadar, ticari levrek büyüme yemi ile beslenmiştir. Deney süresince kontrol ve deney grubundaki akvaryumlarda günlük 1/3 oranında (20 L) su değişimi yapılmış ve yerine aynı konsantrasyonda su ilave edilmiştir. 4. ve 30. gün sonunda her akvaryumdan 4 balık olacak şekilde her gruptan 12, her bir süre sonunda 84 ve toplamda 168 balık kronik denemelerin sonucunu verecek analizlerde kullanılmıştır.



Şekil 3.3. Kronik toksisite deneme düzeni



Kronik toksisite denemelerinde akut toksisite denemelerinden elde edilen LC<sub>50</sub>'nin % 3, % 15 ve % 30'u alınarak bakır ve kadmiyum için 3 farklı konsantrasyon oluşturularak kullanılmıştır. Bakır için 0.05, 0.25 ve 0.50 mg/L, Kadmiyum için ise 0.2, 1 ve 2 mg/L konsantrasyonlarında 30 gün süreyle kronik toksisite denemeleri yürütülmüştür (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Kronik toksisite testlerinde kullanılan oranlar ve konsantrasyonlar

96 Saatlik Toksikite	LC <sub>50</sub> (mg/L)		
Akut Bakır Toksikite Testi	1,643		
Akut Kadmiyum Toksikite Testi	6,699		
Kullanılan LC <sub>50</sub> Oranları	0,03	0,15	0,3
Kronik Toksikite Testleri	Kons. 1	Kons. 2	Kons. 3
Bakır Toksikite Testi	0,05	0,25	0,5
Kadmiyum Toks. Testi	0,2	1	2

#### 3.4. Amonyum ve Nitrit Analizleri

Kronik toksisite testleri boyunca (30 gün) akvaryumlardaki amonyum ve nitrit azotlarındaki konsantrasyon değişimlerini belirleyebilmek için, akvaryumlardan 0., 4., 11., 18., 25. ve 30. günlerde alınan su numunesi örneklerinde amonyum ve nitrit analizleri gerçekleştirilmiştir. Su değişimi sırasında sifonlama ile alınan su örnekleri, 0,45 µm'lik por çapına sahip bir membran filtre ile filtrelendikten sonra analizlerde kullanılmıştır. Nitrit analizi kolorimetrik metot kullanılarak (SM 4500B, 1995), amonyum analizi fenat metodu kullanılarak (SM 4500F, 1995) spektrofotometre ile gerçekleştirildi.

### **3.5. Bakır ve Kadmiyum Analizleri**

#### **3.5.1. Su numunelerinde bakır ve kadmiyum analizleri**

Deniz suyu örneklerinde, kadmiyum ve bakır analizleri Perkin Elmer marka ICP-MS cihazında doğrudan okuma yapılarak gerçekleştirilmiştir (SM 3120B, 1995).

#### **3.5.2. Doku örneklerinde bakır ve kadmiyum analizleri**

Doku örneklerinin ayrılmasında ve homojenizasyonunda paslanmaz çelikten yapılmış diseksiyon aletleri kullanılmıştır. Doku örnekleri çözünürleştirme işlemine kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Analizler için yaklaşık 0.5 g homojenize edilmiş doku örneği parçalama kaplarına alındıktan sonra üzerlerine 8 ml konsantre nitrik asit ve 2 ml hidrojen peroksit ilave edilmiş ve mikrodalga parçalama yöntemi (Berghof MWS-2) kullanılarak belirli sıcaklık ve basınç altında uygun programda çözdürülmüş, sonra tüplere alınmış ve deiyonize su ile 50 ml ye tamamlanarak analize hazır hale getirilmiştir. Metal analizleri 3 tekrarlı olacak şekilde ICP-MS ile analiz edilmiştir (EPA METHOD 3051, 1998).

### **3.6. Enzim Aktivite Tayin Yöntemleri**

#### **3.6.1. Homojenat hazırlanması**

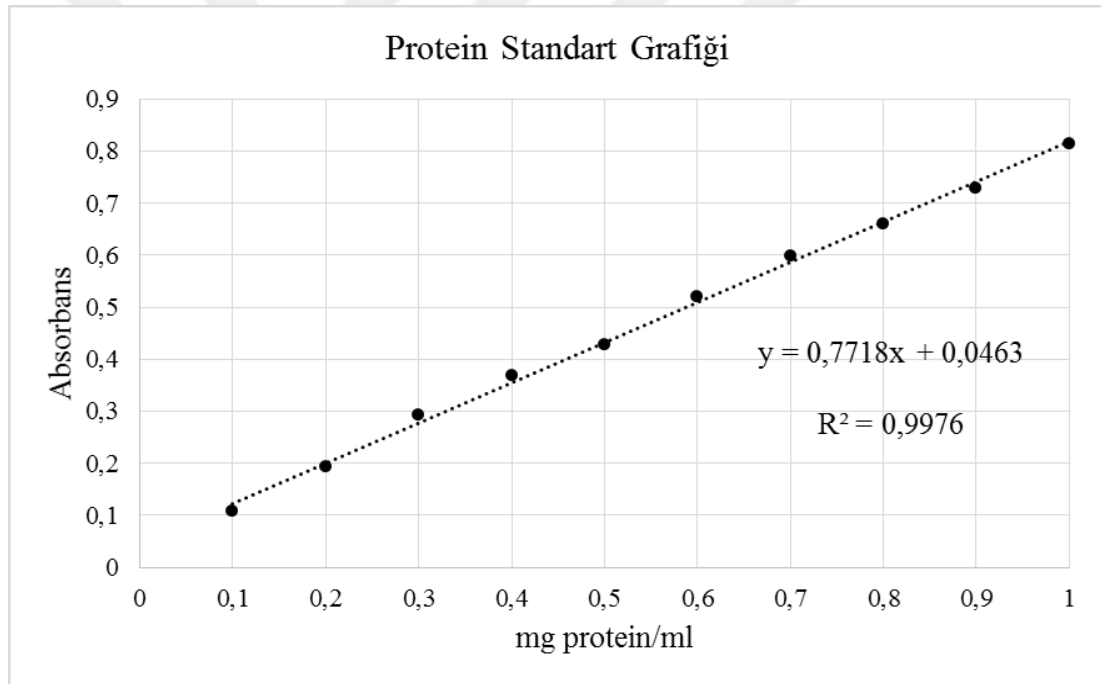
Derin dondurucudan çıkartılan dokular üzerine 1/10 oranında fosfat tamponu (pH:7,4) eklenerek buz içerisinde teflon homojenizatörde 5 dk süreyle homojenize edildikten sonra +4°C'de 10.000 rpm'de 30 dk santrifüj edilerek enzim çalışmalarında kullanılmak üzere süpernatant hazırlanmıştır.

#### **3.6.2. Protein tayini**

Bradford yöntemi, coomassie brilliant blue G-250'nin fosforik asitli ortamda proteinlere bağlanması esasına dayanan bir yöntemdir. Oluşan yapı, absorbanans değerini 595 nm'de maksimum gösterir. Proteinin boya ile etkileşimi ve bağlanması

çok hızlı gerçekleşir (2 dakika). Protein-boya kompleksi çözeltilerde uzun süre kalır. Bu yöntemin hassasiyeti 1-100 µg arasındadır (Bradford, 1976).

Tayin işlemlerinde; 1 mL'sinde 1 mg protein bulduran standart sığır albumin (BSA) çözeltilerinden tüplere 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ve 100 µL alınıp, saf su ile tüm tüplerin hacmi 0.1 mL'ye tamamlandı. 5 mL coomassie brilliant blue G-250 reaktifi tüplere ilave edilip vorteks ile karıştırıldı. 10 dakika sonunda 595 nm de 3 mL'lik küvetlerde absorbans değerleri köre karşı okundu. Köre olarak, 0,1 mL aynı tampon ve 5 mL coomassie brilliant blue G-250 reaktifinden oluşan karışım kullanıldı. Absorbans değerlerine karşılık gelen mikrogram protein değerleri standart grafik halinde Şekil 3.4'de verilmektedir. Protein standart grafiği kullanılarak numunelerin konsantrasyonları hesaplanmıştır.



Şekil 3.4. Protein standart grafiği

### 3.6.3. Katalaz (CAT) aktivitesi tayin yöntemi

Bu yöntem, 240 nm dalga boyunda hidrojen peroksidin ( $H_2O_2$ ) verdiği absorbans değerinin katalaz enzimi aktivitesi sebebiyle zaman içerisinde azalma göstermesi ve bu azalmanın spektrofotometrik olarak izlenmesi temeline dayanır.  $H_2O_2$ 'in spektrofotometrik olarak 240 nm dalga boyunda absorbansındaki düşmenin 1 dakika

izlenmesi ile katalaz aktivitesi belirlenir (Aebi, 1984). Deney, Çizelge 3.2’de belirtilen sıra takip edilerek yapıldı.

Çizelge 3.2. Katalaz (CAT) aktivitesi ölçme yöntemi

	Deney	Tanık deney
Fosfat tamponu	---	0,01 mL
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> çözeltisi	3,00 mL	3,00 mL
Numune (Homojenat)	0,01 mL	---

Deney ve tanık deney çözeltilerinin absorbanslarındaki değişim, damıtık suya karşı 240 nm dalga boyunda 1 dakika boyunca spektrofotometrik olarak izlenerek okundu.

Katalaz aktivitesi hesaplanması:

Bir dakika sonundaki absorbans değişimleri arasındaki fark ( $\Delta A/t$  dakika), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’nin molar absorpsiyon katsayısı ( $\epsilon$ ) ve 10  $\mu$ L numune alınarak yapılan deneylerde katalaz aktivitesi aşağıdaki bağıntıyla hesaplandı (Kuru, 2007).

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’in molarabsorpsiyon katsayısı ( $\epsilon_{H_2O_2}$ ) = 40,98 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>

CAT akt. =  $[(\Delta A_N/t) - (\Delta A_T/t)] \times (l/\epsilon_{H_2O_2}) \times (1/\epsilon) \times (V_T/V_{Nm}) \times SF$

CAT spesifik aktivitesi (U/mg protein) = CAT aktivitesi/Protein kons. (mg/mL)

$\Delta A_N$ : Numunenin absorbans farkı,  $\Delta A_T$ : Tanık çözeltinin absorbans farkı

t: süre (dakika),  $\epsilon$ : ışık yolu (cm), SF: Seyreltme faktörü

$V_T$ : toplam küvet hacmi,  $V_N$ : Numune hacmi

#### 3.6.4. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi tayin yöntemi

Aktivite tayin metodu, 6-hidroksidopaminin (6-OHDA) otooksidasyonuna, SOD’nin inhibisyon etkisinin spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanır (Heikkilä ve Cabbat, 1976; Tarhan ve Tüzmen, 2000; Aydemir ve Tarhan, 2001). SOD için 1 enzim ünitesi (EU), “bir dakikada, 6-OHDA’ın otooksidasyon başlangıç hızını % 50 azaltan enzim miktarı” olarak kabul edilmiş ve spektrofotometrik ölçümler 490 nm’de oksidasyonun 60. saniyesine kadar yapılmıştır. Çünkü 60. saniyeye kadar

otooksidasyon hızının eğimi sabittir. Reaksiyon ortamında SOD mevcut olması durumunda süperoksit anyonu uzaklaştırılacağı için, süperoksitten gelen reaksiyon hızına etki ortadan kalkacak ve reaksiyon hızı azalacaktır. Bu azalma oranının, reaksiyonda oluşan oksidasyon ürünlerinin 490 nm’de absorbands vermeleri nedeni ile takip edilebilmekte ve enzim ünitesi (EU) tanımı yapılabilmektedir.

Kontrolde (6-OHDA’in otooksidasyonu) numune yerine fosfat tamponu (0,05 M, pH7,4) kullanılır. Numune miktarının azaltılması gerektiği durumlarda azaltılan numune miktarı kadar tampon çözelti küvetlere ilave edilir. Deney, Çizelge 3.3’de belirtilen sıra takip edilerek yapıldı.

Çizelge 3.3. 50 µL’lik numune hacmi göz önünde bulundurularak hazırlanmış SOD aktivitesi ölçüm prosedürü

	Kör Küveti	Numune
0,05 M fosfat tamponu (pH 7,4)	670 µL	670 µL
Numune	50 µL	50 µL
Oksijen gazı uzaklaştırılmış 1mM KCl çözeltisi	30 µL	-
0,01 M 6-OHDA çözeltisi ilavesi	-	30 µL
Toplam	750 µL	750 µL

Aktivite aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır (Kuru, 2007).

$$\text{Aktivite (EU/ml)} = (\Delta A_{6\text{-OHDA}} - \Delta A_N) / (\Delta A_{6\text{-OHDA}} / 2) \times V_T / V_N \times 1 \text{ ml} / V_N \times \text{SF}$$

$$\text{SOD spesifik akt. (U/mg protein)} = \text{SOD aktivitesi (EU/ml)} / \text{Protein miktarı (mg/ml)}$$

$\Delta A_{6\text{-OHDA}}$ : 6-Hidroksidopaminin absorbands farkı,  $\Delta A_N$ : Numunenin absorbands farkı

$V_T$ : toplam küvet hacmi,  $V_N$ : Numune hacmi, SF: Seyreltme faktörü

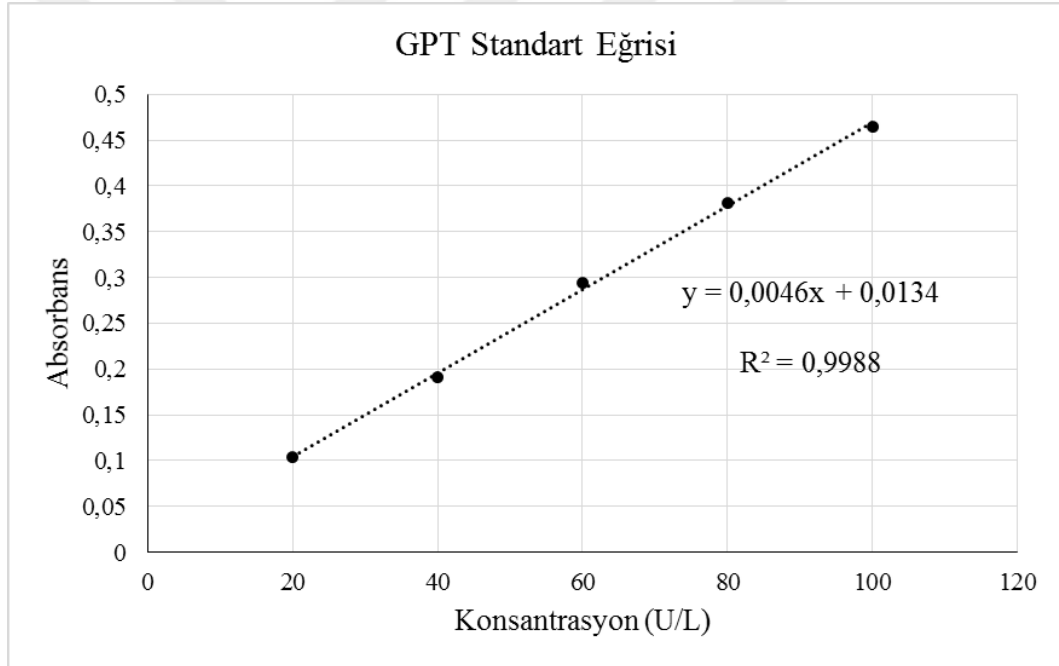
### 3.6.5. Glutamat piruvat transaminaz (GPT) aktivitesi tayin yöntemi

L-alanin’in amino grubu,  $\alpha$ -keto glutarik asite transfer edilerek glutamik asit ve piruvik asit meydana gelir. Piruvat, 2,4-DNPH ve NaOH bulunan ortamda spektrofotometrede okunabilecek bir renk meydana getirir (Reitman ve Frankel, 1957).

Ayıraçlar tüplere Çizelge 3.4’de gösterilen sırada eklendi. Tüpler çalkalanıp 5 dk bekletildikten sonra spektrofotometrede 510 nm dalga boyunda absorbans değerleri okundu ve standart eğri grafiği oluşturuldu (Şekil 3.5).

Çizelge 3.4. GPT standart eğrisinin hazırlanması.

Ayıraçlar	Kör (mL)	1.tüp(mL)	2.tüp(mL)	3.tüp(mL)	4.tüp(mL)
GPT standartı	-	0.1	0.2	0.3	0.4
Saf su	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Substrat	1.0	0.9	0.8	0.7	0.6
Tüpler hafifçe çalkalanır ve 37°C’de 30 dk inkübe edilir.					
2,4-DNPH	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Tüpler çalkalanır ve 20 dk oda sıcaklığında bekletilir.					
0.4 N NaOH	10	10	10	10	10



Şekil 3.5. GPT standart eğrisi.

Ayıraçlar tüplere Çizelge 3.5’de gösterilen sıra ile eklendi. Tüpler çalkalandı ve 5 dk bekletildikten sonra spektrofotometrede 510 nm dalga boyunda absorbans değerleri okundu. Absorbanslara karşılık gelen konsantrasyonlar standart eğri (Şekil 3.5) kullanılarak hesaplandı.

Çizelge 3.5. GPT aktivite tayini yöntemi

Ayırarlar	Kör (mL)	Standart (mL)	Örnek (mL)
GPT substratı	1.0	1.0	1.0
Saf su	0.2	-	-
GPT standartı	-	0.2	-
Örnek	-	-	0.2
Tüpler hafifçe çalkalanır ve 37°C'de 30 dk inkübe edilir.			
2,4-DNPH	1.0	1.0	1.0
Tüpler çalkalanır ve 20 dk oda sıcaklığında bekletilir.			
0.4 N NaOH	10	10	10

### 3.6.6. Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) aktivitesi tayin yöntemi

Glukoz-6-fosfattan 6-fosfoglukanolakton oluşması sırasında indirgenen NADP miktarı bu tepkimeyi katalizleyen G6PD enziminin aktivitesi ile doğru orantılıdır. Enzim aktivitesinin ölçülmesi tepkime sırasında oluşan NADPH'nin 340 nm dalga boyunda birim zamanda verdiği absorbans farkının saptanması esasına dayanır (Beutler, 1975).

Çizelge 3.6. G6PD aktivite tayini yöntemi

Ayırarlar	Kör (µl)	Örnek (µl)
Saf su	1200	1100
1 M Tris, 5 mM EDTA Tamponu (pH:8)	200	200
0,1 M MgCl <sub>2</sub>	200	200
6 mM G6P-Na	200	200
2 mM NADP <sup>+</sup>	200	200
Homojenat	-	100

Çözeltiler çizelgedeki gibi tüplere konulduktan sonra 37 °C'de 10 dakika inkübe edildi. Sonra kontrole karşı numunenin absorbans artışları 340 nm'de 3 dakika süreyle kaydedildi (Beutler, 1975). Dokulardaki G6PD enzim aktivitesi aşağıdaki Enzim ünitesi formülü kullanılarak hesaplandı.

$$\text{G6PD Aktivitesi (EU/ml)} = (\Delta A \times V_{\text{toplaml}} / 6,22 \times V_{\text{homojenat}} \times t) \times \text{SF}$$

$$\text{G6PD spesifik akt. (U/mg protein)} = \text{G6PD Aktivitesi (EU/ml)} / \text{Protein mik. (mg/ml)}$$

$\Delta A$ : 340 nm'deki absorbands değişimi, t: süre (dakika)

$V_{\text{toplaml}}$ : toplam küvet hacmi,  $V_{\text{homojenat}}$ : kullanılan numune hacmi

6,22: NADP<sup>+</sup>'nin milimolar absorpsiyon katsayısı, SF: seyreltme faktörü

### 3.6.7. Malondialdehit (MDA) analizi

MDA lipit peroksidasyonunun sekonder bir ürünü olup lipitlere ait peroksidasyonun belirlenmesinde kullanılan önemli bir parametredir. Aerobik şartlarda tiyobarbitirik asit (TBA) ile 90°C'de inkübasyonu sonucu pembe renkli kompleks meydana getirir. Bu oluşan kompleksin absorbandsı spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda okunur (Draper ve Hadley, 1990).

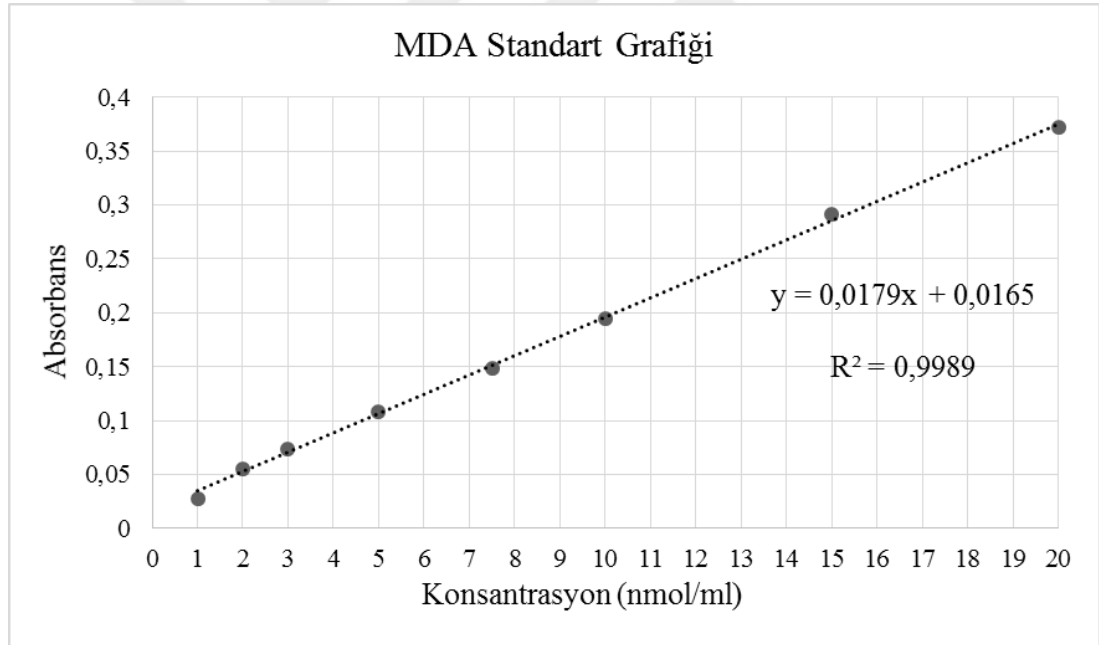
Her deney tüpüne 2,5 mL %10'luk trikloro asetik asit (TCA) konuldu ve üzerine de 0,5 mL numune eklendi. Bu çözelti vorteksle karıştırıldıktan sonra, tüpün ağzı kapatılıp 90°C'deki su banyosunda 15 dakika bekletildi. Su banyosundan alınan tüpler, buz içerisinde 15 dakika bekletildikten sonra, oda sıcaklığına gelmesi sağlandı. 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatant elde edilmiştir. 2 mL süpernatant alınarak başka tüplere aktarıldı ve üzerlerine % 0,675'lik TBA'dan 1 mL ilave edilerek, 90 °C'deki su banyosunda 15 dakika bekletildi. Örnekler tekrar buz dolu kap içerisinde 15 dakika bekletildikten sonra, oda sıcaklığına gelmesi beklendi. Ardından spektrofotometrede üstteki organik kısım alınıp 532 nm'de kör tüpüne karşı absorbands değerleri okundu. Kör tüpü hazırlanırken, araştırma başlangıcındaki numune yerine 0,5 mL distile su alınıp konulmuştur ve diğer işlemlerin aynısı uygulanmıştır. Doku örneklerinde MDA analizinin yapılışı Çizelge 3.7'de verilmiştir.



Çizelge 3.7. MDA analizinin yapılış şeması

	Kör	Örnek
% 10 luk TCA	2.5 mL	2.5 mL
Doku	-	0.5 mL
Distile Su	0.5 mL	-
90 °C su banyosunda 15 dakika bekletildi		
15 dakika buz içerisinde bekletildi		
Süpernetant	2 mL	2 mL
% 0.0675'lik TBA	1 mL	1 mL
90 °C su banyosunda 15 dakika bekletildi. 15 dakika buz içerisinde bekletildi.		

Standart olarak MDA bis (1,1,3,3-tetraetoksipropan) kullanıldı. Doku yerine 0.5mL hazırlanan standartlar eklenerek diğer işlemlerin aynısı uygulandı. Elde edilen sonuçlara göre konsantrasyon–absorbans grafiği elde edildi (Şekil 3.6). Numunelerin konsantrasyon değerleri bu grafik göz önünde bulundurularak hesaplanmıştır.



Şekil 3.6. MDA standart grafiği

### 3.7. İstatistiksel Analizler

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan bakır ve kadmiyum iyonlarının Sarıağız balığının (*Argyrosomus regius*) 4. ve 30. gündeki kas, solungaç ve karaciğer dokularında antioksidan enzim aktivitelerinin önemli derecede farklılık gösterip göstermediğini belirlemek amacı ile istatistiksel analizler gerçekleştirilmiştir. İki ayrı

grup karşılaştırmaları için bağımsız iki örneklı t-testi, ikiden daha fazla grup karşılaştırmaları için ise ANOVA testi ile birlikte gruplar arası farkın olduğu durumda, farklılığın hangi gruptan kaynaklı olduğunu tespit için Bonferroni posthoc çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. İstatiksel analizler için SPSS paket programı (versiyon 25) kullanılmış ve önem derecesi  $\alpha= 0.05$  olarak seğılmıştir (Çetinkaya, 2015).



## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. Akut Toksikite Denemeleri

Akut bakır ve kadmiyum denemeleri aŐađıda belirtilen su kalitesi ve fotoperiyot Őartlarında gerćekleŐtirilmiŐtir (ćizelge 4.1).

ćizelge 4.1. Akut toksisite denemelerinin gerćekleŐtirildiđi su kalitesi ve fotoperiyot Őartları

Sıcaklık	20 °C
Tuzluluk	38 ppt
Oksijen Doygunluğu	> % 85
pH	8,4
Fotoperiyot	12 saat aydınlık 12 saat karanlık

Kullanılan deniz suyunun pH'sı 8,4 olmakla birlikte bakır toksisite denemelerinde bakır sulfat ilavesiyle pH'da değişiklikler tespit edilmiştir. Bu durumdan bakır toksisite denemesinde bahsedilecektir.

### 4.2. Akut Bakır Toksikite Testi Bulguları

Denemenin yürütüldüğu 4 gün boyunca kontrol (A1/A2), 0.1 mg/L (B1/B2) ve 0.5 mg/L (C1/C2) deneme gruplarında herhangi bir ölüm görülmemiŐ ve balıkların morfolojik ve davranıŐsal gözlemlerinde de herhangi bir olumsuzluğa rastlanılmamıŐtır. İlk 24 saat içinde 20 mg/L (H1/H2) ve 40 mg/L (J1/J2) gruplarında bulunan balıkların tamamının öldüğu görülmüŐtür. 10 mg/L (G1/G2) deneme grubundaki balıklar 48 saat, 5 mg/L (F1/F2) de bulunan balıklar ise 72 saat içinde tamamı ölmüŐtür. 4 gün sonunda, 1 mg/L (D1/D2) deneme grubunda % 20, 2 mg/L (E1/E2) deneme grubunda % 70'lik ölüm gözlenmiŐtir (ćizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Akut bakır toksisite testi 24, 48, 72 ve 96 saatlik ölüm oranları

Tatbik Süresi (saat)	Gruplar	Konsantrasyon (mg/L)	1. tekerrür ölü balık sayısı (adet)	2. tekerrür ölü balık sayısı (ad)	Ortalama Ölüm Oranı (%)
24	A1/A2	Kontrol	0	0	0
	B1/B2	0,1	0	0	0
	C1/C2	0,5	0	0	0
	D1/D2	1	0	0	0
	E1/E2	2	2	2	20
	F1/F2	5	5	4	45
	G1/G2	10	7	8	75
	H1/H2	20	10	10	100
	J1/J2	40	10	10	100
48	A1/A2	Kontrol	0	0	0
	B1/B2	0,1	0	0	0
	C1/C2	0,5	0	0	0
	D1/D2	1	0	0	0
	E1/E2	2	4	5	45
	F1/F2	5	7	7	70
	G1/G2	10	10	10	100
	H1/H2	20	10	10	100
	J1/J2	40	10	10	100
72	A1/A2	Kontrol	0	0	0
	B1/B2	0,1	0	0	0
	C1/C2	0,5	0	0	0
	D1/D2	1	1	2	15
	E1/E2	2	6	5	55
	F1/F2	5	10	10	100
	G1/G2	10	10	10	100
	H1/H2	20	10	10	100
	J1/J2	40	10	10	100
96	A1/A2	Kontrol	0	0	0
	B1/B2	0,1	0	0	0
	C1/C2	0,5	0	0	0
	D1/D2	1	2	2	20
	E1/E2	2	7	7	70
	F1/F2	5	10	10	100
	G1/G2	10	10	10	100
	H1/H2	20	10	10	100
	J1/J2	40	10	10	100

1 mg/L deneme grubunda (D1-D2) denemenin ilk iki günü balıklarda herhangi bir davranış bozukluğu gözlenmemiştir (toplam 20 balık). Daha sonra balıkların bazılarının suyun yüzeyine doğru yüzdükleri ve soluma hareketleri yaptıkları gözlenmiştir. İlk ölüm zamanı 48 ila 72 saat aralığında gerçekleşmiştir. 72 saat süre sonunda ölüm oranı % 15, 96 saat süre sonunda % 20 olarak gerçekleşmiştir.

2 mg/L (E1-E2) grubunda deneme başlangıcından ilk 12 saat boyunca normal davranış gösterdikleri gözlenmiş, süre ilerledikçe davranış bozuklukları kendini göstermeye başlamıştır. Daha sonra balıkların suyun yüzeyine yaklaşarak yüzdükleri görülmekle beraber zamanla kontrolsüz ve yan yüzme hareketleri gözlenmiştir. İlk ölüm 18. saatte gözlenmiş ve 24 saat deneme süresince ölüm oranı % 20 olarak gerçekleşmiştir. 96 saat süre sonunda balıkların % 70'i ölmüştür.

5 mg/L (F1-F2) grubunda deneme başlangıcından ilk 2 saat boyunca normal davranışlar gösterdikleri gözlenmiştir. Daha sonra balıkların suyun yüzeyine yaklaşarak yüzdükleri görülmüş ve kontrolsüz yüzme, suyun dışına kaçma hareketleri ve su yüzeyine yaklaşarak soluma hareket tarzları gözlenmiştir. Bu belirtiler deneme ilerledikçe artmıştır. İlk ölüm 10. saatte gözlenmiştir. İlk 24 saatlik deneme süresince ölüm oranı % 45 olarak gerçekleşmiştir ve 72 saat de balıkların tamamının öldüğü belirlenmiştir.

40, 20 ve 10 mg/L deneme gruplarında (J1/J2, H1/H2 ve G1/G2) deneme başlangıcından ilk 30 dakika içinde balıklarda yüzeyde toplanma, ters ve yan yüzmeler, hızlı kontrolsüz yüzme, suyun dışına kaçma hareketleri ve su yüzeyine yaklaşarak soluma hareketleri gözlenmiştir. Bu belirtiler deneme ilerledikçe artmıştır. Bunu takiben 40 mg/L (L1-L2) gruplarında 4, 20 mg/L (H1-H2) gruplarında 8 ve 10 mg/L (G1-G2) gruplarında 30. saatte balıkların tamamı ölmüştür.

40 mg/L konsantrasyon gruplarında ilk ölüm 2. saat içinde görülürken, konsantrasyon azaldıkça ilk ölüm zamanlarının arttığı görülmüştür. 20 ve 10 mg/L bakır konsantrasyonuna maruz bırakılan gruplarda bu süre 4 saate ve 1 mg/L konsantrasyon gruplarında ise 72 saate çıkmaktadır (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Akut bakır toksisite denemelerindeki bazı değişkenler

Konsantrasyon (mg/L)	İlk Ölüm Zamanı (saat)	Etkili Konsantrasyon
Kontrol	-	-
0,1	-	-
0,5	-	-
1	72	X
2	24	X
5	10	X
10	4	X
20	4	X
40	2	X

Bakırın sariağız balıkları üzerindeki 96 saatlik akut toksisitesi (0,5 probite karşılık gelen ve bireylerin yarısının (%50) ölümüne neden olan konsantrasyon)  $LC_{50}= 1,643$  mg/L olarak bulunmuştur. Bu değer % 95 güven sınırlarında alt sınırı 1,407 ve üst sınırı da 1,962 mg/L olarak probit analizi ile belirlenmiştir. Ayrıca bakırın sariağız balıkları üzerinde 24 saat  $LC_{50}= 6,702$  mg/L, 48 saat  $LC_{50}= 3,598$  mg/L ve 72 saat  $LC_{50}= 3,454$  mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.4). Süre uzadıkça bakır  $LC_{50}$  değeri azalma göstermiştir. Sariağız balıkları ilk 24 saat içinde daha büyük konsantrasyonları tolere edebilirken zaman ilerledikçe daha düşük konsantrasyonlara tolerans göstermiştir.

Çizelge 4.4. Akut bakır toksisite testinde farklı süreler için belirlenen  $LC_{50}$  değerleri ve % 95 lik güven sınırları

Maruz Bırakma Süresi (saat)	$LC_{50}$ (mg/L)	% 95 lik Güven Sınırları	
		Alt Sınır	Üst Sınır
24	6,702	5,593	8,244
48	3,598	2,989	4,459
72	3,454	2,716	4,604
96	1,643	1,407	1,962

Gerek akvaryumlardaki gerçek bakır konsantrasyonları (Çizelge 4.5) ve gerek pH'daki azalma (Çizelge 4.6) dikkate alındığında hem bakır iyonlarının hem de hidroksil iyonlarının azaldığı görülmektedir. Bu durum yüksek konsantrasyona sahip hidroksit ve bakır iyonlarının, bakır hidroksitin çözünürlüğünün düşük olmasından dolayı çökelek oluşturmasından kaynaklanmıştır.

Çizelge 4.5. Deneme süresince akvaryumlardaki bakır iyonu konsantrasyon (mg Cu/L) değişimi ( $X \pm SD$ )

Nominal Bakır Kons. (mg/L)	Başlangıç Kons. (mg/L)	24. saat kons. (mg/L)	48. saat kons. (mg/L)	72. saat kons. (mg/L)	96. saat kons. (mg/L)
Kontrol	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
0,1	0,108±0,011	0,106±0,019	0,102±0,013	0,097±0,008	0,090±0,004
0,5	0,523±0,027	0,500±0,050	0,502±0,032	0,492±0,025	0,474±0,010
1	0,955±0,031	0,962±0,019	0,943±0,019	0,936±0,011	0,928±0,015
2	1,794±0,054	1,825±0,030	1,747±0,062	1,742±0,055	1,725±0,006
5	4,252±0,047	4,137±0,026	4,103±0,021		
10	7,153±0,099	7,191±0,098			
20	13,344±0,629				
40	25,387±0,698				

Deneme süresince pH'daki değişimin aynı grup için 1 birimden fazla değişim göstermesi istenmez. Grupların kendi içerisindeki pH değişimleri yaklaşık 0,1 birimlik bir değişim göstermiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Deneme süresince bakır ilaveli akvaryumlardaki pH değişimi

Cu	Kontrol	0,1 mg/L	0,5 mg/L	1 mg/L	2 mg/L	5 mg/L	10 mg/L	20 mg/L	40 mg/L
Başlangıç	8,45	8,38	8,33	8,28	8,2	8,10	7,95	7,62	7,33
24 saat	8,42	8,36	8,33	8,27	8,15	8,05	7,92		
48 saat	8,40	8,35	8,32	8,27	8,12	8,01			
72 saat	8,39	8,35	8,32	8,26	8,15				
96 saat	8,41	8,35	8,32	8,24	8,15				

### 4.3. Akut Kadmiyum Toksikite Testi Bulguları

Denemenin yürütüldüğü 4 gün boyunca kontrol (A1/A2), 0.1 mg/L (B1/B2), 0.5 mg/L (C1/C2), 1 mg/L (D1/D2) ve 2 mg/L (E1/E2) deneme gruplarında herhangi bir ölüm görülmemiş ve balıkların morfolojik gözlemlerinde de herhangi bir olumsuzluğa rastlanılmamıştır.

5 mg/L (F1-F2) grubunda deneme başlangıcından ilk 24 saat boyunca normal davranış gösterdikleri gözlenmiş, süre ilerledikçe davranış bozuklukları kendini göstermeye başlamıştır. Daha sonra balıkların suyun yüzeyine yaklaşarak yüzdükleri görülmekle beraber zamanla kontrolsüz ve yan yüzme hareketleri gözlenmiştir. İlk ölüm 40. saatte gözlenmiş ve 48 saat deneme süresince ölüm oranı % 10 olarak gerçekleşmiştir. 96 saat süre sonunda balıkların % 40'ı ölmüştür.

20 ve 10 mg/L deneme gruplarında (H1/H2 ve G1/G2) deneme grubunda ilk 12 saat içerisinde önemli derecede morfolojik ve davranış değişiklikleri gözlenmemiştir. Süre ilerledikçe balıklarda yüzeyde toplanma, ters ve yan yüzmeler, hızlı kontrolsüz yüzme, suyun dışına kaçma hareketleri ve su yüzeyine yaklaşarak soluma hareketleri gözlenmeye başlanmıştır. Bunu takiben ilk ölüm 18. saatte gözlenmiş ve 48 saat sonunda balıkların tamamı ölmüştür (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Akut kadmiyum toksisite denemelerindeki ilk ölüm zamanları ve etkili konsantrasyonlar

Konsantrasyon (mg/L)	İlk Ölüm Zamanı (saat)	Etkili Konsantrasyon
Kontrol	-	-
0,1	-	-
0,5	-	-
1	-	-
2	-	-
5	40	X
10	18	X
20	18	X
40	12	X

40 mg/L (J1/J2) deneme grubunda ilk 6 saat içerisinde önemli derecede morfolojik ve davranış değişiklikleri gözlenmemiştir. Süre ilerledikçe balıklarda yüzeyde toplanma, ters ve yan yüzmeler, hızlı kontrolsüz yüzme, suyun dışına kaçma hareketleri ve su yüzeyine yaklaşarak soluma hareketleri gözlenmeye başlanmıştır. Bu belirtiler deneme ilerledikçe daha da artmıştır. Bunu takiben ilk ölüm 12. saatte gözlendi ve 18. saat sonunda balıkların tamamının öldüğü görüldü. Denemelerde belirlenen ölüm oranları çizelge 4.8'de verilmiştir.



Çizelge 4.8. Akut kadmiyum toksisite testi 24, 48, 72 ve 96 saatlik ölüm oranları

Tatbik Süresi (saat)	Gruplar	Konsantrasyon (mg/L)	1. tekerrür ölü balık sayısı (adet)	2. tekerrür ölü balık sayısı (ad)	Ortalama Ölüm Oranı (%)
24	A1/A2	Kontrol	0	0	0
	B1/B2	0,1	0	0	0
	C1/C2	0,5	0	0	0
	D1/D2	1	0	0	0
	E1/E2	2	0	0	0
	F1/F2	5	0	0	0
	G1/G2	10	2	3	25
	H1/H2	20	5	5	50
	J1/J2	40	10	10	100
48	A1/A2	Kontrol	0	0	0
	B1/B2	0,1	0	0	0
	C1/C2	0,5	0	0	0
	D1/D2	1	0	0	0
	E1/E2	2	0	0	0
	F1/F2	5	1	1	10
	G1/G2	10	4	5	45
	H1/H2	20	10	10	100
	J1/J2	40	10	10	100
72	A1/A2	Kontrol	0	0	0
	B1/B2	0,1	0	0	0
	C1/C2	0,5	0	0	0
	D1/D2	1	0	0	0
	E1/E2	2	0	0	0
	F1/F2	5	3	2	25
	G1/G2	10	7	7	70
	H1/H2	20	10	10	100
	J1/J2	40	10	10	100
96	A1/A2	Kontrol	0	0	0
	B1/B2	0,1	0	0	0
	C1/C2	0,5	0	0	0
	D1/D2	1	0	0	0
	E1/E2	2	0	0	0
	F1/F2	5	4	4	40
	G1/G2	10	8	9	85
	H1/H2	20	10	10	100
	J1/J2	40	10	10	100

Kadmiyumun sarıağız balıkları üzerindeki 96 saatlik akut toksisitesi (0,5 probite karşılık gelen ve bireylerin yarısının (%50) ölümüne neden olan konsantrasyon)  $LC_{50}=6,699$  mg/L olarak bulunmuştur. Bu değer % 95 güven sınırlarında alt sınırı 5,717 mg/L ve üst sınırı da 7,930 mg/L olarak probit analizi ile belirlenmiştir. Ayrıca kadmiyumun sarıağız balıkları üzerinde 24 saat  $LC_{50}=18,645$  mg/L, 48 saat  $LC_{50}=10,171$  mg/L ve 72 saat  $LC_{50}=8,049$  mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.9). Süre uzadıkça kadmiyumun  $LC_{50}$  değeri azalma göstermiştir.

Çizelge 4.9. Akut kadmiyum toksisite testinde belirlenen  $LC_{50}$  değerleri ve %95'lik güven sınırları

Maruz Bırakma Süresi (saat)	$LC_{50}$ (mg/L)	% 95 lik Güven Sınırları	
		Alt Sınır	Üst Sınır
24	18,645	15,858	22,922
48	10,171	8,700	12,586
72	8,049	6,899	9,593
96	6,699	5,717	7,930

Deneme süresince pH değerlerinde kaydedeğer bir değişiklik gözlenmemiştir (Çizelge 4.10). Deneme süresince pH'daki değişimin aynı grup için 1 birimden fazla değişim göstermesi istenmez. Grupların kendi içerisindeki pH değişimleri yaklaşık 0,05 birimlik bir değişim göstermiştir.

Çizelge 4.10. Deneme süresince kadmiyum ilaveli akvaryumlardaki pH değişimi

Cd	kontrol	0,1 mg/L	0,5 mg/L	1 mg/L	2 mg/L	5 mg/L	10 mg/L	20 mg/L	40 mg/L
başlangıç	8,45	8,42	8,38	8,41	8,43	8,42	8,44	8,39	8,37
24 saat	8,42	8,38	8,41	8,39	8,42	8,43	8,39	8,44	8,41
48 saat	8,4	8,41	8,42	8,44	8,37	8,4	8,42	8,42	8,39
72 saat	8,39	8,37	8,45	8,38	8,4	8,41	8,43	8,41	8,4
96 saat	8,41	8,4	8,42	8,4	8,4	8,44	8,42	8,43	8,42

Deneme süresince kadmiyum konsantrasyonlarında ortalama % 4 civarlarında bir değişim gözlenmiştir. Bu da beklenen ve kabul edilebilirdir. En az değişim % 2,9 ile 10 mg/L grubunda, en fazla değişim de % 7,8 ile 0,1 mg/L grubunda belirlenmiştir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Deneme süresince akvaryumlardaki kadmiyum iyonu konsantrasyon (mg Cd/L) değişimi (X±SD)

Nominal Cd Kons. (mg/L)	Başlangıç Kons. (mg/L)	24. saat kons. (mg/L)	48. saat kons. (mg/L)	72. saat kons. (mg/L)	96. saat kons. (mg/L)
Kontrol	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
0,1	0,102±0,013	0,097±0,020	0,104±0,027	0,094±0,025	0,094±0,005
0,5	0,497±0,024	0,503±0,028	0,496±0,026	0,489±0,019	0,480±0,011
1	1,018±0,064	1,004±0,041	1,007±0,045	0,986±0,026	0,976±0,019
2	2,048±0,038	2,002±0,025	1,969±0,040	1,992±0,022	1,966±0,079
5	5,042±0,068	5,005±0,110	4,949±0,059	4,853±0,094	4,870±0,029
10	9,772±0,106	9,856±0,078	9,770±0,167	9,492±0,149	9,490±0,142
20	19,614±0,477	19,392±0,135			
40	39,530±1,242				

#### 4.4. Kronik Toksikite Denemeleri

Bakır ve kadmiyumun dokular üzerindeki etkilerini inceleyebilmek için subletal kronik toksisite testleri gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla akut toksisite testlerinden elde edilen LC<sub>50</sub> değerlerinin % 3, % 15 ve % 30 oranları alınarak 3 farklı konsantrasyon oluşturulmuştur. Balıklar bakırın 0,050 mg/L, 0,250 mg/L ve 0,500 mg/L subletal konsantrasyonlarına; Kadmiyumun 0,200 mg/L, 1,000 mg/L ve 2,000 mg/L subletal konsantrasyonlarına bırakılmış ve denemeler 3 tekrarlı olarak aşağıda belirtilen su kalitesi ve fotoperiyot şartlarında gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Kronik toksisite denemelerinin gerçekleştirildiği su kalitesi ve fotoperiyot şartları

Sıcaklık	20 °C
Tuzluluk	38 ppt
Oksijen doygunluğu	> % 85
pH	8,4
Fotoperiyot	12 saat aydınlık 12 saat karanlık
Maruz bırakma süresi	30 gün

Kronik toksisite testleri boyunca (30 gün) akvaryumlarda 0., 4., 11., 18., 25. ve 30. günlerde alınan su numunesi örneklerinde kadmiyum ve bakır iyonlarının konsantrasyonlarındaki değişimleri Çizelge 4.13 ve 4.14'de verilmiştir.

Kronik bakır toksisitesi denemesi sonunda adsorpsiyon, çökeltme, emilim gibi nedenlerden dolayı 30 gün sonunda bakır konsantrasyonları 0,05 mg/L Cu tanklarında % 29, 0,250 mg/L Cu tanklarında % 26 ve 0,500 mg/L Cu tanklarında % 16 oranında azaldığı tespit edildi (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. Kronik bakır toksisitesi biyodeneş tanklarındaki bakır iyonu konsantrasyonundaki (mg/L Cu) değışimi (X±SD)

	Kontrol	0,05 mg/L Cu	0,250 mg/L Cu	0,500 mg/L Cu
0.gün	<0,010	0,051±0,003	0,255±0,007	0,514±0,009
4.gün	<0,010	0,048±0,003	0,230±0,005	0,489±0,006
11.gün	<0,010	0,044±0,002	0,222±0,004	0,464±0,009
18.gün	<0,010	0,042±0,002	0,208±0,006	0,450±0,008
25.gün	<0,010	0,041±0,001	0,195±0,006	0,436±0,006
30.gün	<0,010	0,036±0,002	0,190±0,006	0,430±0,007

Kronik Kadmiyum toksisitesi denemesi sonunda adsorpsiyon, çökeltme, emilim vb. nedenlerden dolayı 30 gün sonunda kadmiyum konsantrasyonlarının % 5 ila % 19 arasında azaldığı tespit edildi (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. Kronik kadmiyum toksisitesi biyodeneş tanklarındaki kadmiyum iyonu konsantrasyonu (mg/L Cd) değışimi (X±SD)

	Kontrol	0,2 mg/L Cd	1 mg/L Cd	2 mg/L Cd
0.gün	<0,010	0,204±0,010	1,009±0,020	1,986±0,008
4.gün	<0,010	0,189±0,003	0,962±0,013	1,963±0,010
11.gün	<0,010	0,179±0,003	0,947±0,010	1,937±0,006
18.gün	<0,010	0,172±0,004	0,936±0,011	1,916±0,005
25.gün	<0,010	0,167±0,004	0,923±0,010	1,894±0,008
30.gün	<0,010	0,165±0,003	0,916±0,009	1,889±0,007

Kronik toksisite testleri boyunca (30 gün) akvaryumlarda 0., 4., 11., 18., 25. ve 30. günlerde alınan su numunesi örneklerinde amonyum ve nitrit azotlarındaki konsantrasyon değışimleri Çizelge 4.15 ve 4.16'da verilmiştir.

Çizelge 4.15. Kronik subletal toksisite biyodeneş tanklarındaki amonyum azot konsantrasyonlarının (mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N/L) zamansal değişimi (X±SD)

Gruplar	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N Konsantrasyonu (mg/L)					
	0.gün	4.gün	11.gün	18.gün	25.gün	30.gün
Kontrol	0,051±0,012	0,069±0,004	0,099±0,012	0,151±0,007	0,202±0,011	0,286±0,019
0,05 mg/L Cu	0,051±0,016	0,069±0,005	0,107±0,025	0,135±0,007	0,194±0,018	0,256±0,032
0,25 mg/L Cu	0,053±0,008	0,074±0,011	0,097±0,010	0,155±0,007	0,216±0,005	0,274±0,012
0,50 mg/L Cu	0,055±0,010	0,073±0,011	0,101±0,005	0,148±0,005	0,198±0,022	0,261±0,021
0,2 mg/L Cd	0,057±0,013	0,094±0,022	0,101±0,014	0,169±0,025	0,187±0,008	0,302±0,013
1 mg/L Cd	0,049±0,011	0,074±0,011	0,109±0,014	0,150±0,016	0,200±0,016	0,289±0,024
2 mg/L Cd	0,055±0,009	0,070±0,006	0,087±0,016	0,153±0,012	0,195±0,018	0,279±0,047

Deneme süresince zamanla tanklardaki amonyum ve nitrit konsantrasyonları beslenmeye bağlı artış göstermiştir (Çizelge 4.15 ve 4.16). Kontrol grubu ile kıyaslandığında kadmiyum ve bakıra maruz bırakılan tanklardaki amonyum ve nitrit miktarları benzer davranış göstermiş ve istatistiki bir fark tespit edilememiştir.

Çizelge 4.16. Kronik subletal toksisite biyodeneş tanklarındaki nitrit azot konsantrasyonlarının (mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N /L) zamansal değişimi (X±SD)

Gruplar	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N Konsantrasyonu (mg/L)					
	0.gün	4.gün	11.gün	18.gün	25.gün	30.gün
Kontrol	0,049±0,004	0,087±0,005	0,111±0,014	0,280±0,009	0,353±0,012	0,437±0,029
0,05 mg/L Cu	0,050±0,007	0,092±0,015	0,110±0,022	0,268±0,030	0,344±0,010	0,460±0,036
0,25 mg/L Cu	0,054±0,002	0,096±0,025	0,130±0,018	0,277±0,009	0,354±0,009	0,447±0,022
0,50 mg/L Cu	0,045±0,004	0,082±0,005	0,121±0,004	0,284±0,029	0,352±0,006	0,437±0,035
0,2 mg/L Cd	0,050±0,003	0,086±0,009	0,123±0,014	0,291±0,025	0,358±0,010	0,440±0,034
1 mg/L Cd	0,048±0,007	0,093±0,009	0,123±0,021	0,283±0,020	0,349±0,008	0,468±0,016
2 mg/L Cd	0,054±0,007	0,095±0,015	0,132±0,020	0,287±0,011	0,363±0,006	0,438±0,027

Kır vd. (2015), nitrit için *A. regius*'da 96 saat LC<sub>50</sub> değerini 18 °C'de 177,63 mg/L NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N olduğunu bildirmiştir. Ayrıca Kır vd. (2016) amonyum için *A. regius*'da 96 saat LC<sub>50</sub> değerini 18 °C'de 19,79 mg/L NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N olduğunu bildirmiştir. Akvaryumlarda tespit edilen amonyum ve nitrit konsantrasyonları bu verilen değerlerin çok altında olduğu görülmektedir. Bundan dolayı deneme süresince akvaryumlarda oluşan amonyum ve nitritin balıklar üzerinde olumsuz bir etki göstermeyeceği düşünölmektedir.

#### 4.5. Dokulardaki Metal Birikimleri

*A. regius* 'da belirlenen konsantrasyon ve sürede karaciğer, kas ve solungaç dokuları için üç tekrarlı olarak saptanan metal düzeylerinin aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları Çizelge 4.17 verilmiştir. *A. regius* 'da 30 günlük zaman sürecinde ortamda bulunan bakır konsantrasyonu arttıkça dokulardaki bakır birikimi de önemli oranlarda artmıştır (Çizelge 4.17). Bu artış, denenen bütün dokularda tüm konsantrasyonlar arasında istatistik önem taşımaktadır (Çizelge 4.17,  $P<0.05$ ). Ortam konsantrasyonunda 10 katlık bir artış 30. günde karaciğer ve solungaç dokularındaki bakır birikiminde yaklaşık 1,5 katlık bir artışa neden olmuştur. *A. regius* 'da belirli bir sürede ve farklı ortam konsantrasyonunda bakır birikimi bakımından dokular arasında önemli farklılıklar bulunduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.17). Birikim en fazla karaciğerde olmuş bunu solungaç ve kas dokusu izlemiştir. 30. gün sonunda 0,5 mg/L ortam konsantrasyonunda karaciğerde biriken bakır, incelenen dokularda biriken bakırın % 96'sını oluşturmaktadır.

Çizelge 4.17. Farklı bakır ortam konsantrasyonlarına 30 gün süreyle bırakılan *A. regius*'un kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki bakır birikimi ( $\mu\text{g Cu/g}$  yaş ağırlık)

Konsantrasyon	Doku		
	Kas	Solungaç	Karaciğer
Kontrol	T.S.A.	T.S.A.	1,545 $\pm$ 0,046
0,050 mg/L Cu	0,698 $\pm$ 0,045 a	4,961 $\pm$ 0,114 a	130,3 $\pm$ 11,5 a
0,250 mg/L Cu	0,813 $\pm$ 0,030 b	5,977 $\pm$ 0,132 b	156,2 $\pm$ 18,1 b
0,500 mg/L Cu	0,971 $\pm$ 0,012 c	7,485 $\pm$ 0,558 c	196,8 $\pm$ 19,9 c

Değerler aritmetik ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.

a, b ve c harfleri konsantrasyonlar arası farkı belirtmek üzere kullanılmıştır.

Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik farklılık vardır ( $P<0.05$ ).

T.S.A. Tayin sınırının altında

*A. regius* 'da 30 günlük zaman sürecinde ortamda bulunan kadmiyum konsantrasyonu arttıkça doku ve organlardaki kadmiyum birikiminin arttığı saptanmıştır (Çizelge 4.18). 30. günde denenen bütün dokularda ve tüm konsantrasyonlar arasında istatistik fark tespit edilmiştir (Çizelge 4.18,  $P<0.05$ ). Ortam konsantrasyonunda 10 katlık bir artış 30. gün sonunda yaklaşık karaciğerde 3,5, solungaçlarda ise 2 kat daha fazla kadmiyum birikimine neden olmuştur. *A. regius* 'da belirli bir sürede ve farklı ortam konsantrasyonunda kadmiyum birikimi bakımından dokular arasında önemli farkların

bulunduğu görülmüştür. Birikim en fazla karaciğerde olmuş bunu solungaç ve kas dokusu izlemiştir.

Çizelge 4.18. Farklı kadmiyum ortam konsantrasyonlarına 30 gün süreyle bırakılan *A. regius*'un kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki kadmiyum birikimi ( $\mu\text{g Cd/g}$  yaş ağırlık)

Konsantrasyon	Doku		
	Kas	Solungaç	Karaciğer
Kontrol	T.S.A.	T.S.A.	T.S.A.
0,2 mg/L Cd	0,817 $\pm$ 0,024 a	8,991 $\pm$ 0,054 a	25,14 $\pm$ 0,777 a
1,0 mg/L Cd	1,094 $\pm$ 0,114 b	13,68 $\pm$ 0,801 b	50,74 $\pm$ 3,615 b
2,0 mg/L Cd	1,347 $\pm$ 0,207 c	18,15 $\pm$ 0,537 c	87,21 $\pm$ 6,054 c

Değerler aritmetik ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.

a, b ve c harfleri konsantrasyonlar arası farkı belirtmek üzere kullanılmıştır.

Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik farklılık vardır ( $P < 0.05$ ).

T.S.A. Tayin sınırının altında

#### 4.6. Metallerin Antioksidan Enzim Aktivitelerine Etkileri

##### 4.6.1. Bakırın dokularda katalaz enzim aktivitesine etkisi

*A. regius*'da dokulardaki CAT aktivitesi üzerine bakırın süreye bağlı etkileri Çizelge 4.19'da gösterilmiştir. Uygulanan bütün konsantrasyonlarda kas ve solungaç dokularında, bakırın etkisinde 30 günlük etki süresinde 4. güne oranla CAT enzimi aktivitesinde artış gözlenirken karaciğer dokusunda azalma göstermiş ve fark anlamlı bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Bu değişim kas dokusunda % 29 oranında ve solungaç dokusunda % 24 oranında gerçekleşmiştir. Karaciğer dokusunda ise 0,050 ve 0,250 mg/L konsantrasyonlarda %13 civarında olurken 0,500 mg/L konsantrasyon grubunda % 25 oranında gerçekleşmiştir (Çizelge 4.19).

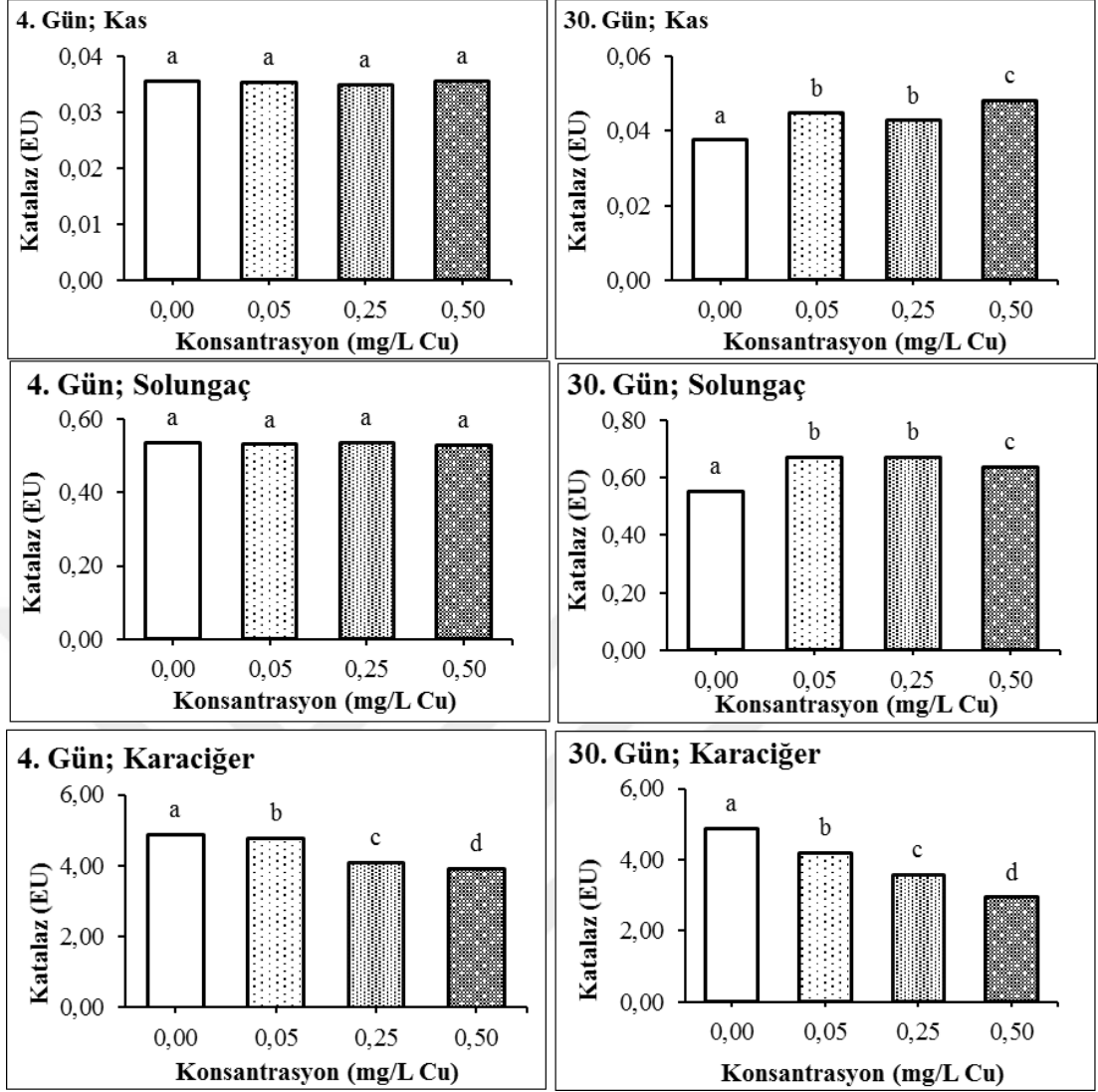
Çizelge 4.19. Farklı bakır ortam konsantrasyonlarının etkisinde sarıağız balığının (*A. regius*) kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki bakır birikiminin CAT enzim aktivitesi (U/mg protein) üzerine süreye bağlı etkisi

Doku	Konsantrasyon mg/L Cu	Süre	
		4. Gün $\bar{X} \pm SD$	30. Gün $\bar{X} \pm SD$
Kas	Kontrol	0,036 ± 0,0010 a	0,037 ± 0,0039 a
	0,050	0,035 ± 0,0010 a	0,045 ± 0,0010 b
	0,250	0,035 ± 0,0007 a	0,043 ± 0,0012 b
	0,500	0,036 ± 0,0012 a	0,048 ± 0,0024 b
Solungaç	Kontrol	0,535 ± 0,0171 a	0,553 ± 0,0239 a
	0,050	0,530 ± 0,0135 a	0,672 ± 0,0271 b
	0,250	0,534 ± 0,0154 a	0,670 ± 0,0334 b
	0,500	0,528 ± 0,0161 a	0,639 ± 0,0177 b
Karaciğer	Kontrol	4,883 ± 0,1329 a	4,867 ± 0,3602 a
	0,050	4,774 ± 0,1029 a	4,188 ± 0,3778 b
	0,250	4,070 ± 0,1308 a	3,565 ± 0,1340 b
	0,500	3,914 ± 0,0779 a	2,939 ± 0,1665 b

Değerler aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırda farklı harflerle gösterilen veriler arasında  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık vardır.

Bakırın etkisinde kas ve solungaç dokusunda CAT enzim aktivitesi, 4. günde tüm konsantrasyonlarda kontrole oranla herhangi bir değişim göstermemiş ( $P > 0.05$ ), 30 günlük etki süresinde ise tüm konsantrasyonlarda kontrole oranla artış göstermiştir ( $P < 0.05$ ). Karaciğer dokusunda Cu etkisinde çalışılan her iki sürede de CAT aktivitesi kontrole oranla azalmış ve bu azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ) (Şekil 4.1). Karaciğer CAT aktivitesi en yüksek ortam konsantrasyonunda (0,500 mg/L Cu) kontrole göre 4. günde % 20, 30. günde % 40 düzeyinde azalmıştır. 0,050 mg/L konsantrasyon grubunda ise, bu azalma, 4. günde % 2 oranında iken 30. günde % 14 oranında gerçekleşmiştir. Buradan CAT enzim aktivitesinin, artan süre ve artan bakır konsantrasyonundan daha fazla etkilendiği görülmektedir.





Şekil 4.1. Sarıağız balığının (*A. regius*) kas, solungaç ve karaciğer dokularında bakır ortam konsantrasyonlarının CAT enzim aktivitesi üzerine etkisi.

#### 4.6.2. Kadmiyumun dokulardaki katalaz enzim aktivitesine etkisi

Kadmiyum konsantrasyonlarının süreye bağlı olarak *A. regius*'un farklı dokularında CAT aktivitesine etkileri çizelge 4.20'de gösterilmiştir. Çalışılan tüm konsantrasyonlar ve dokularda kadmiyumun etkisinde 30 günlük etki süresinde 4. güne oranla CAT enzimi aktivitesinin arttığı belirlenmiştir ( $P<0.05$ ).

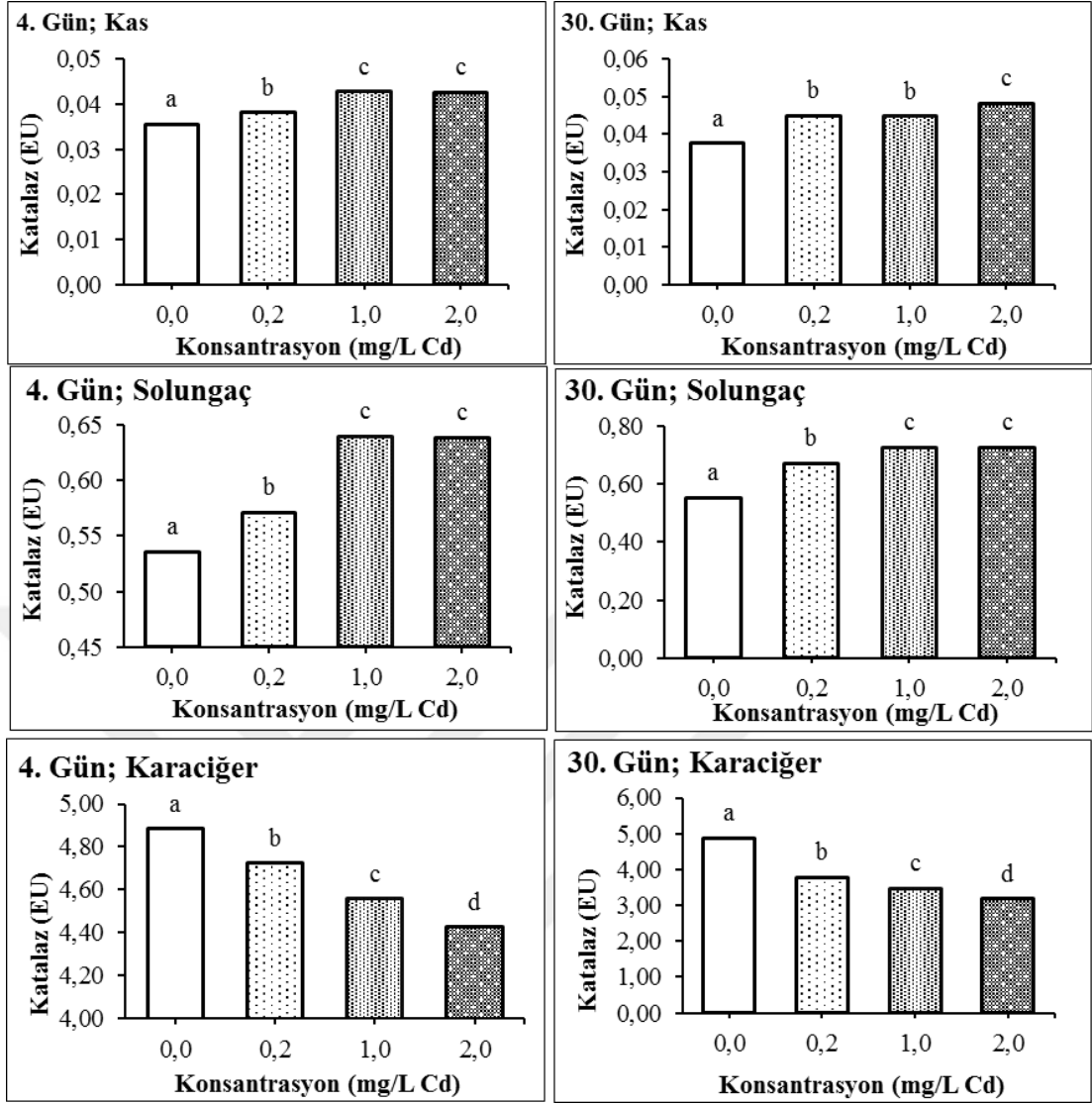
Kadmiyumun etkisinde kas ve solungaç dokularında her iki sürede de CAT aktivitesi kontrole oranla artış göstermiştir ve bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Karaciğer dokusunda her iki sürede de CAT aktivitesi kontrole oranla azalış göstermiş ve bu azalma kadmiyum konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı

bulunmuştur ( $P<0,05$ ) (Şekil 4.2). 4. günde 2,0 mg/L Cd konsantrasyonunda karaciğer dokusu CAT aktivitesi % 9 azalırken, 30 günde % 35 azalış göstermiş, 1,0 mg/L’de ise 4. günde % 7 ve 30. günde % 29 azalma göstermiştir.

Çizelge 4.20. Farklı kadmiyum ortam konsantrasyonlarının etkisinde sarıağız balığının (*A. regius*) kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki kadmiyum birikiminin CAT enzim aktivitesi (U/mg protein) üzerine süreye bağlı etkisi.

Doku	Konsantrasyon mg/L Cd	Süre		
		4. Gün $\bar{X} \pm SD$	30. Gün $\bar{X} \pm SD$	
Kas	Kontrol	0,036 $\pm$ 0,0010 a	0,037 $\pm$ 0,0039 a	
	0,2	0,038 $\pm$ 0,0010 a	0,045 $\pm$ 0,0022 b	
	1,0	0,043 $\pm$ 0,0012 a	0,045 $\pm$ 0,0023 b	
	2,0	0,042 $\pm$ 0,0010 a	0,048 $\pm$ 0,0017 b	
		Kontrol	0,535 $\pm$ 0,0172 a	0,553 $\pm$ 0,0240 a
Solungaç	0,2	0,571 $\pm$ 0,0167 a	0,670 $\pm$ 0,0147 b	
	1,0	0,639 $\pm$ 0,0157 a	0,726 $\pm$ 0,0266 b	
	2,0	0,638 $\pm$ 0,0184 a	0,726 $\pm$ 0,0358 b	
		Kontrol	4,883 $\pm$ 0,1329 a	4,867 $\pm$ 0,3602 a
	Karaciğer	0,2	4,724 $\pm$ 0,1323 a	3,774 $\pm$ 0,1226 b
1,0		4,557 $\pm$ 0,1032 a	3,458 $\pm$ 0,0837 b	
2,0		4,426 $\pm$ 0,0730 a	3,177 $\pm$ 0,0657 b	

Değerler aritmetik ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırda farklı harflerle gösterilen veriler arasında  $P<0.05$  düzeyinde farklılık vardır.



Şekil 4.2. Sarıağız balığının (*A. Regius*) kas, solungaç ve karaciğer dokularında kadmiyum ortam konsantrasyonlarının CAT enzim aktivitesi üzerine etkisi.

#### 4.6.3. Bakırın dokulardaki superoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesine etkisi

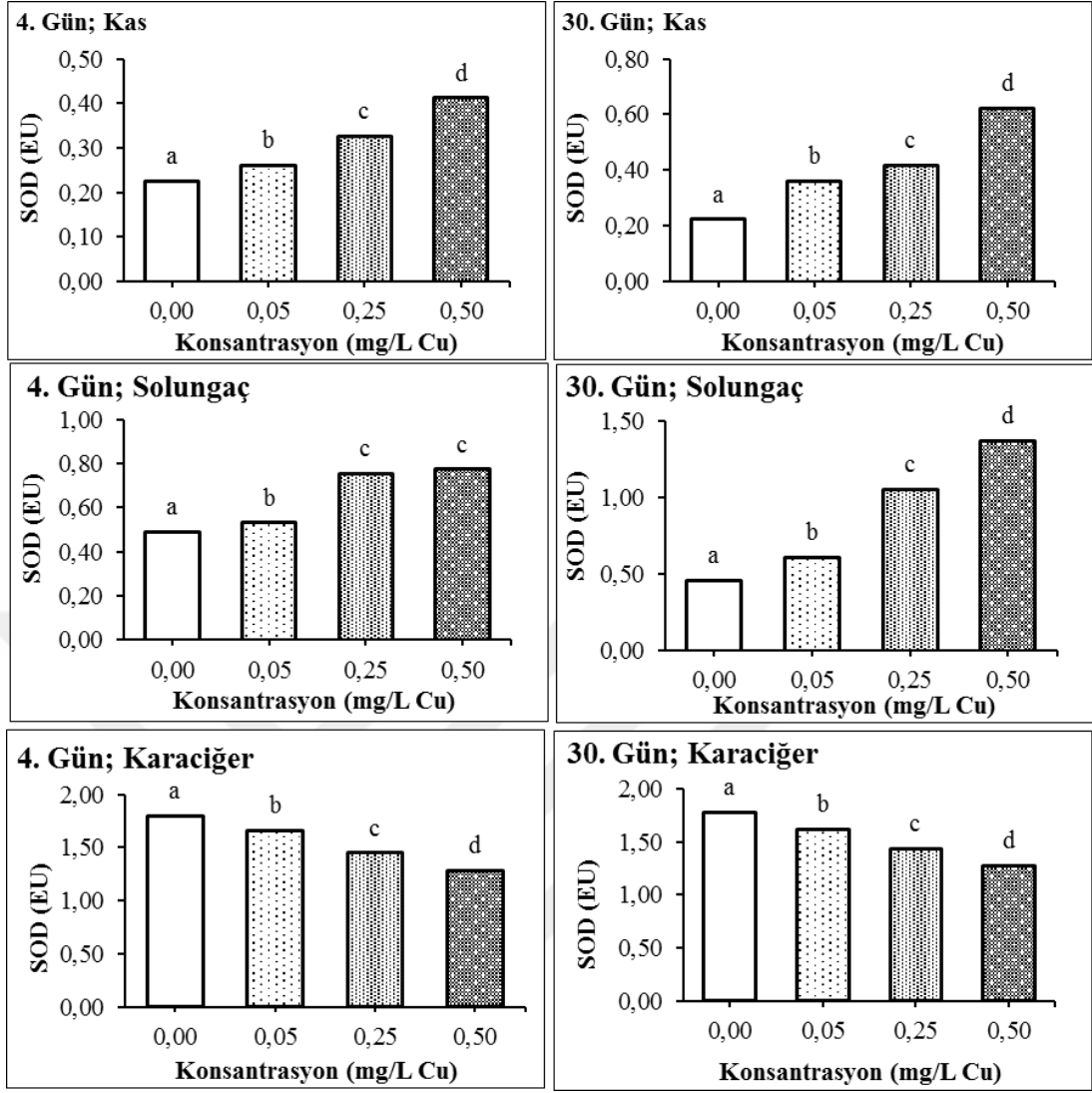
Farklı bakır konsantrasyonlarının etkisine bırakılan balıkların kas ve solungaç dokularında 30 günlük etki süresinde 4. güne oranla SOD enzim aktivitesinde artış gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Karaciğer dokusu SOD enzim aktivitesi 0,050 mg/L ortam konsantrasyonunda 30 günlük etki süresinde 4. güne oranla azalış gösterirken, diğer ortam konsantrasyonlarında değişim göstermemiştir (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21. Farklı bakır ortam konsantrasyonlarının etkisinde sarıağız balığının (*A. regius*) kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki bakır birikiminin SOD enzim aktivitesi (U/mg protein) üzerine süreye bağlı etkisi.

Doku	Konsantrasyon mg/L Cu	Süre	
		4. Gün $\bar{X} \pm SD$	30. Gün $\bar{X} \pm SD$
Kas	Kontrol	0,225 ± 0,008 a	0,223 ± 0,007 a
	0,050	0,260 ± 0,018 a	0,361 ± 0,017 b
	0,250	0,325 ± 0,014 a	0,418 ± 0,012 b
	0,500	0,412 ± 0,008 a	0,622 ± 0,021 b
Solungaç	Kontrol	0,489 ± 0,037 a	0,461 ± 0,018 a
	0,050	0,532 ± 0,021 a	0,610 ± 0,031 b
	0,250	0,754 ± 0,041 a	1,054 ± 0,041 b
	0,500	0,774 ± 0,046 a	1,371 ± 0,046 b
Karaciğer	Kontrol	1,796 ± 0,019 a	1,775 ± 0,062 a
	0,050	1,658 ± 0,023 a	1,613 ± 0,044 b
	0,250	1,450 ± 0,040 a	1,437 ± 0,027 a
	0,500	1,283 ± 0,030 a	1,271 ± 0,034 a

Değerler aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırda farklı harflerle gösterilen veriler arasında  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık vardır.

Kas ve solungaç dokularında bakırın etkisinde SOD enzim aktivitesi 4 ve 30 günlük etki sürelerinde tüm konsantrasyonlarda kontrole oranla artış gösterirken, karaciğer dokusunda SOD enzim aktivitesi azalmıştır ( $P < 0,05$ )(Şekil 4.3). Her iki sürede de kas ve solungaç dokularında konsantrasyondaki artışa bağlı olarak enzim aktivitesinin arttığı, karaciğerde ise konsantrasyondaki artışa bağlı olarak enzim aktivitesindeki azalmanın daha fazla olduğu gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ). SOD enzim aktivitesi; kas dokusunda 4. günde % 86 oranında, 30. günde % 182 oranında, solungaç dokusunda ise 4. günde % 57 oranında, 30. günde % 198 oranında artmıştır. Karaciğer dokusunda SOD enzim aktivitesi 4. ve 30. günlerde % 29 oranında azalmıştır.



Şekil 4.3. Sarıağız balığının (*A. regius*) kas, solungaç ve karaciğer dokularında bakır ortam konsantrasyonlarının SOD enzim aktivitesi üzerine etkisi.

#### 4.6.4. Kadmiyumun dokulardaki superoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesine etkisi

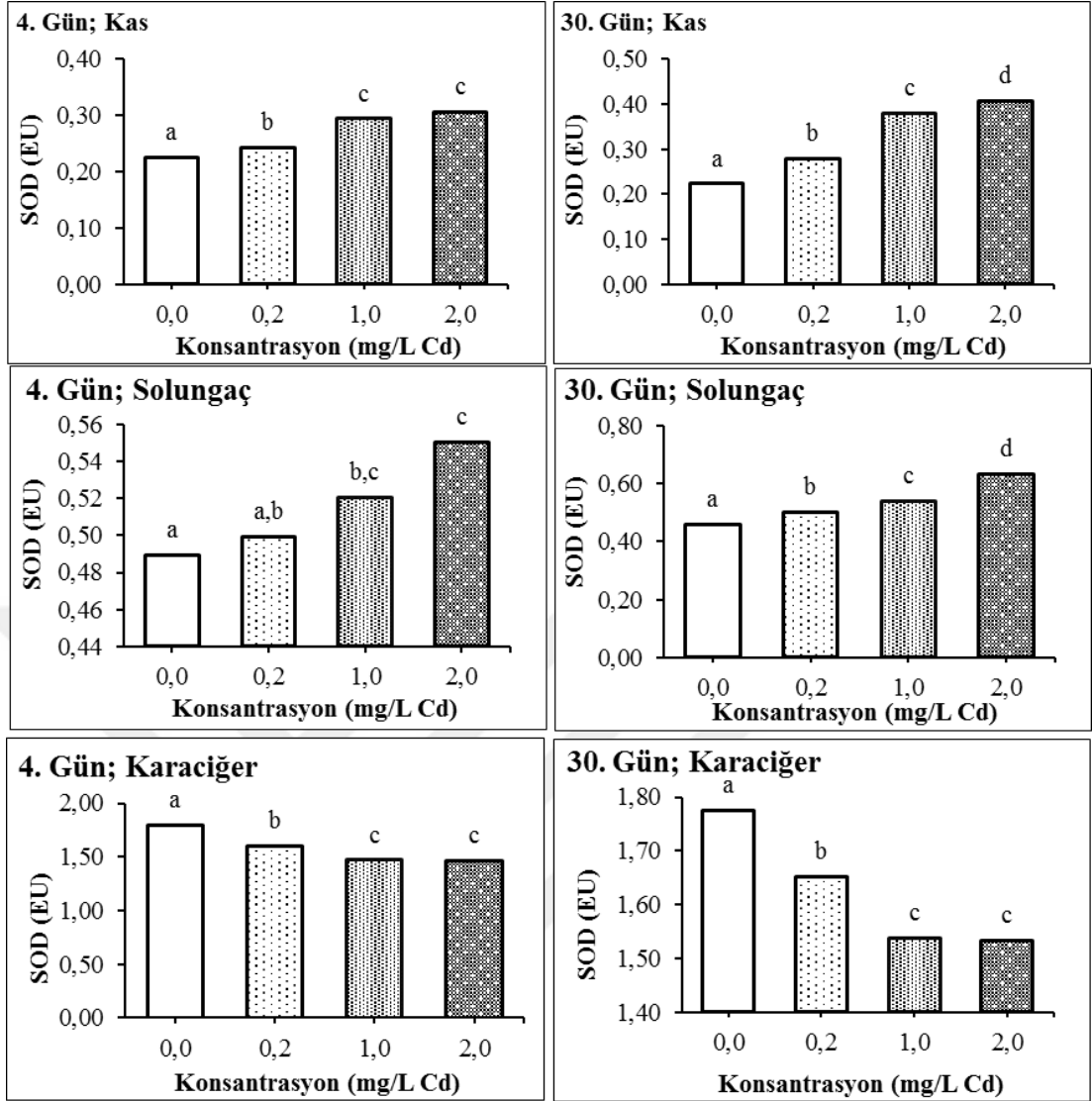
Uygulanan bütün kadmiyum konsantrasyonlarının etkisine bırakılan balıkların kas ve karaciğer dokularında 30 günlük etki süresinde 4. güne oranla SOD enzim aktivitesinde artış gözlenmiştir. Solungaç dokusunda ise sadece 2 mg/L Cd ortam konsantrasyonunda süreler arasında artış gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ) (Çizelge 4.22).

Çizelge 4.22. Farklı kadmiyum ortam konsantrasyonlarının etkisinde sarıağız balığının (*A. regius*) kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki bakır birikiminin SOD enzim aktivitesi (U/mg protein) üzerine süreye bağlı etkisi (EU).

Doku	Konsantrasyon mg/L Cd	Süre	
		4. Gün $\bar{X} \pm SD$	30. Gün $\bar{X} \pm SD$
Kas	Kontrol	0,225 ± 0,008 a	0,223 ± 0,007 a
	0,2	0,242 ± 0,018 a	0,278 ± 0,021 b
	1,0	0,294 ± 0,018 a	0,380 ± 0,023 b
	2,0	0,306 ± 0,014 a	0,408 ± 0,026 b
Solungaç	Kontrol	0,490 ± 0,037 a	0,461 ± 0,018 a
	0,2	0,499 ± 0,038 a	0,501 ± 0,038 a
	1,0	0,520 ± 0,018 a	0,540 ± 0,037 a
	2,0	0,550 ± 0,031 a	0,632 ± 0,021 b
Karaciğer	Kontrol	1,796 ± 0,019 a	1,775 ± 0,061 a
	0,2	1,596 ± 0,050 a	1,651 ± 0,057 b
	1,0	1,470 ± 0,062 a	1,538 ± 0,046 b
	2,0	1,462 ± 0,049 a	1,534 ± 0,026 b

Değerler aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırda farklı harflerle gösterilen veriler arasında  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık vardır.

Kas ve solungaç dokularında kadmiyumun etkisinde SOD enzim aktivitesi 4 ve 30 günlük etki sürelerinde tüm konsantrasyonlarda kontrole oranla artış gösterirken, karaciğer dokusunda SOD enzim aktivitesi azalmıştır ( $P < 0,05$ ). 30 günlük etki süresinde kas ve solungaç dokularında konsantrasyondaki artışa bağlı olarak enzim aktivitesinin arttığı, karaciğerde (2,0 mg/L Cd konsantrasyonu hariç) konsantrasyondaki artışa bağlı olarak enzim aktivitesindeki azalmanın daha yüksek olduğu gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ) (Şekil.4.4). SOD aktivitesi; kas dokusunda 4. günde % 41 oranında, 30. günde % 86 oranında, solungaç dokusunda ise 4. günde % 12 oranında, 30. günde % 37 oranında artmıştır. Karaciğer dokusunda SOD aktivitesi 4. ve 30. günlerde % 18-14 oranında azalmıştır.



Şekil 4.4. Sarıağız balığının (*A. regius*) kas, solungaç ve karaciğer dokularında kadmiyum ortam konsantrasyonlarının SOD enzim aktivitesi üzerine etkisi.

#### 4.6.5. Bakırın dokulardaki glukoz 6 fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzim aktivitesine etkisi

*A. regius*' da G6PD aktivitesine bakır iyonlarının etkileri Çizelge 4.23 ve Şekil 4.7'de verilmiştir. Süreler arasında, denenen bakır konsantrasyonlarının etkisinde *A. regius*' da kas, karaciğer ve solungaç (0.050 mg/L hariç) dokularında 30 günlük etki süresinde 4. güne oranla G6PD enzim aktivitesinde artış gözlenmiş ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ( $P<0.05$ ) (Çizelge 4.23).

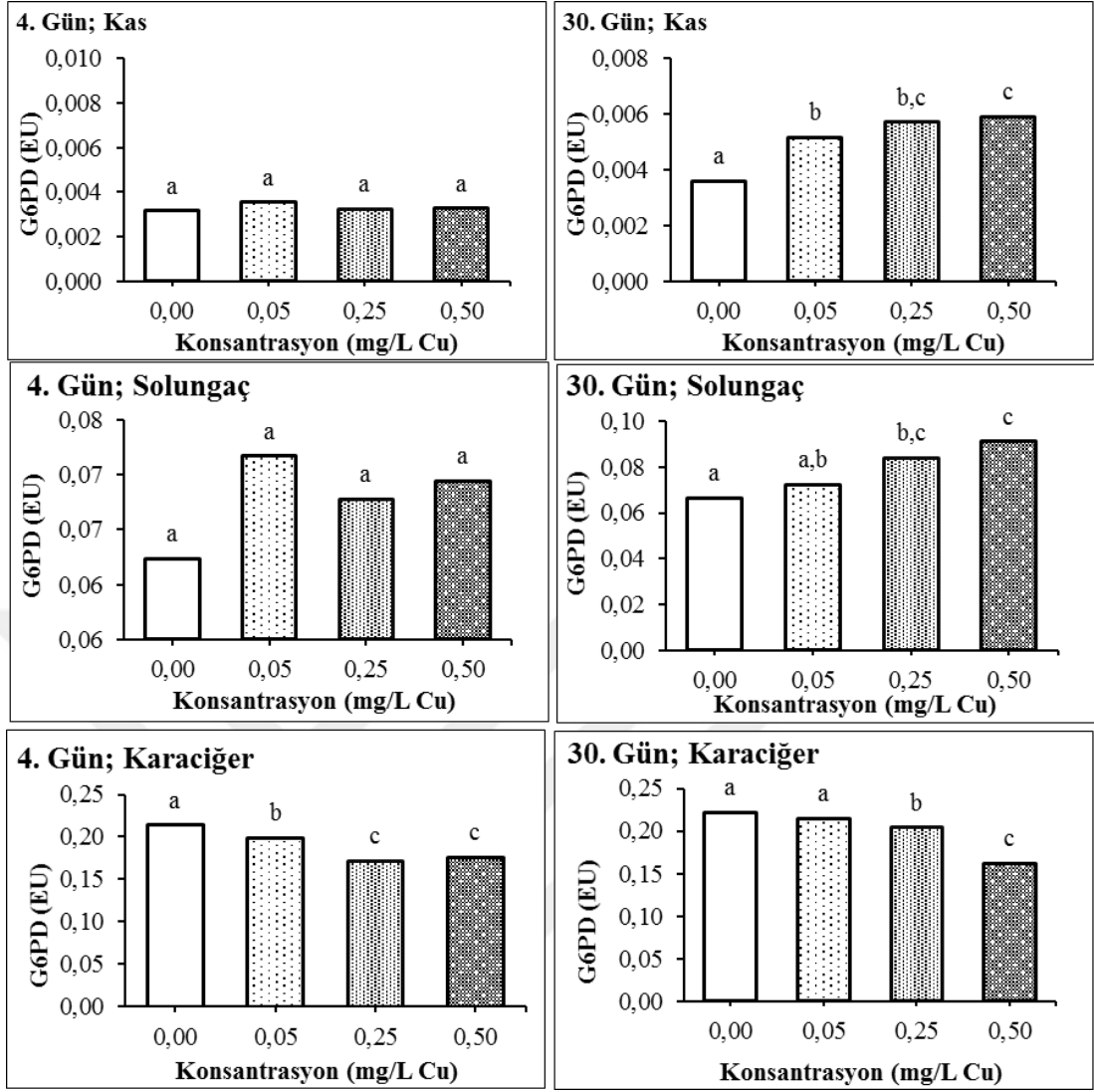
Çizelge 4.23. Farklı bakır ortam konsantrasyonlarının etkisinde sarıağız balığının (*A. regius*) kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki bakır birikiminin G6PD enzim aktivitesi (U/mg protein) üzerine süreye bağlı etkisi.

Doku	Konsantrasyon mg/L Cu	Süre	
		4. Gün $\bar{X} \pm SD$	30. Gün $\bar{X} \pm SD$
Kas	Kontrol	0,0031 ± 0,0006 a	0,0036 ± 0,0004 a
	0,050	0,0035 ± 0,0003 a	0,0052 ± 0,0009 b
	0,250	0,0033 ± 0,0009 a	0,0057 ± 0,0006 b
	0,500	0,0033 ± 0,0003 a	0,0059 ± 0,0006 b
Solungaç	Kontrol	0,0623 ± 0,0087 a	0,0662 ± 0,0079 a
	0,050	0,0717 ± 0,0063 a	0,0724 ± 0,0141 a
	0,250	0,0678 ± 0,0070 a	0,0839 ± 0,0146 b
	0,500	0,0694 ± 0,0179 a	0,0911 ± 0,0131 b
Karaciğer	Kontrol	0,2138 ± 0,0136 a	0,2213 ± 0,0140 a
	0,050	0,1987 ± 0,0154 a	0,2146 ± 0,0087 b
	0,250	0,1719 ± 0,0059 a	0,2037 ± 0,0073 b
	0,500	0,1758 ± 0,0090 a	0,1619 ± 0,0040 b

Değerler aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırda farklı harflerle gösterilen veriler arasında  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık vardır.

Bakırın etkisinde kas ve solungaç dokuları G6PD enzim aktivitesi 4. günde tüm konsantrasyonlarda kontrole oranla herhangi bir değişim göstermezken, 30 günlük etki süresinde tüm konsantrasyonlarda kontrole oranla artış göstermiştir. Karaciğer dokusunda G6PD enzim aktivitesi her iki sürede ve denenen tüm bakır konsantrasyonlarında (30. gün 0.05 mg/L hariç) kontrole oranla azalmıştır ( $P < 0,05$ ) (Şekil 4.5).





Şekil 4.5. Sarıağız balığının (*A. regius*) kas, solungaç ve karaciğer dokularında bakır ortam konsantrasyonlarının G6PD enzim aktivitesi üzerine etkisi.

#### 4.6.6. Kadmiyumun dokulardaki glukoz 6 fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzim aktivitesine etkisi

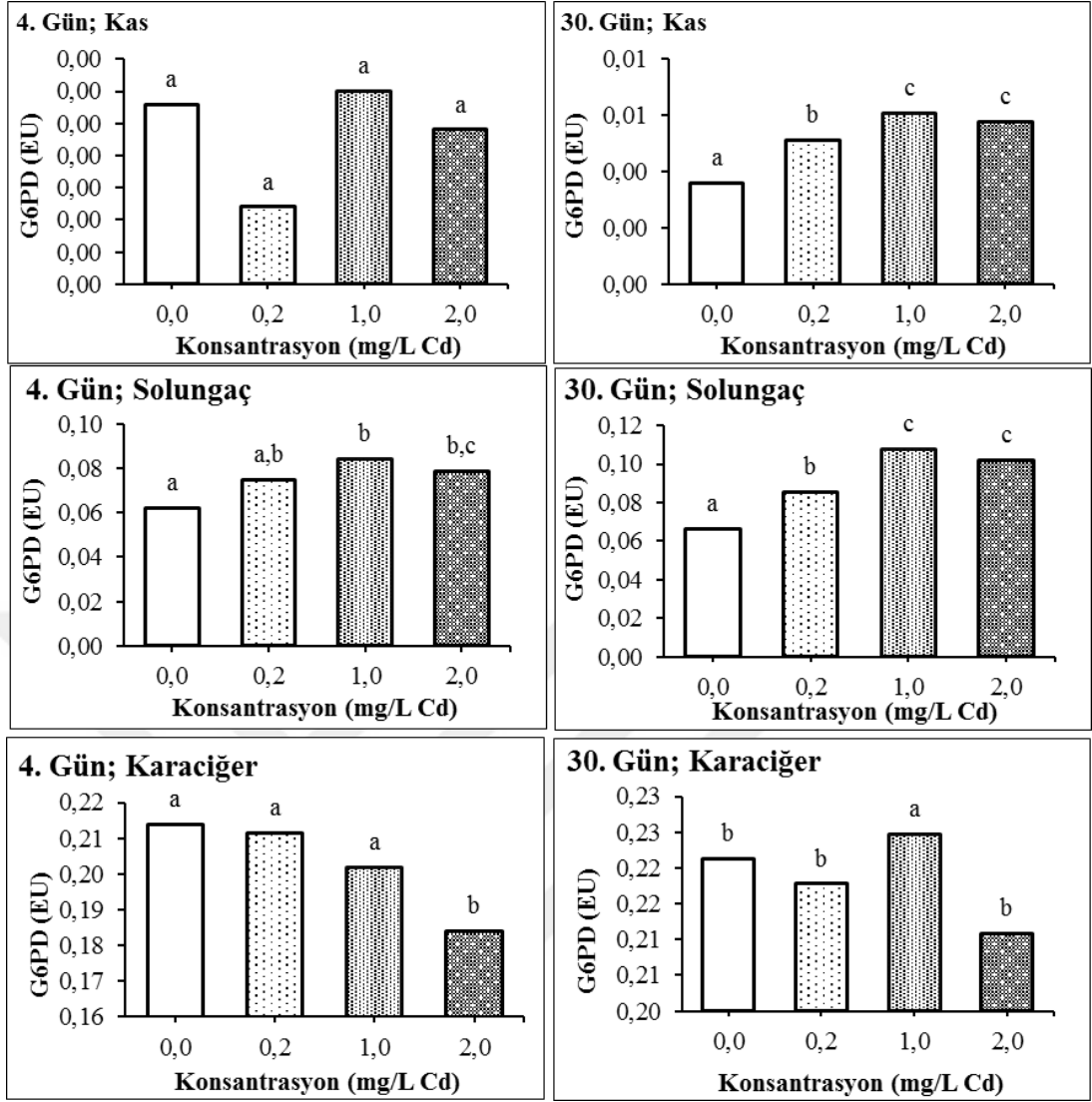
Sarıağız balığının dokularındaki G6PD aktivitesine kadmiyum iyonlarının etkileri Çizelge 4.24 ve Şekil 4.8’de verilmiştir. Uygulanan kadmiyum konsantrasyonlarının etkisinde *A. regius*’ da kas dokusunda 30 günlük etki süresinde 4. güne oranla G6PD enzim aktivitesinde artış görülmüştür ( $P<0.05$ ). Karaciğer ve solungaç dokularında ise yüksek ortam konsantrasyonlarında 30 günlük etki süresinde 4. güne oranla G6PD enzim aktivitesinde artış görülürken ( $P<0.05$ ), 0,2 mg/L konsantrasyonunda anlamlı bir değişim gözlemlenmemiştir (Çizelge 4.24).

Çizelge 4.24. Farklı kadmiyum ortam konsantrasyonlarının etkisinde sarıağız balığının (*A. regius*) kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki bakır birikiminin G6PD enzim aktivitesi (U/mg protein) üzerine süreye bağlı etkisi.

Doku	Konsantrasyon mg/L Cd	Süre	
		4. Gün $\bar{X} \pm SD$	30. Gün $\bar{X} \pm SD$
Kas	Kontrol	0,0032 ± 0,0006 a	0,0036 ± 0,0004 a
	0,2	0,0028 ± 0,0003 a	0,0051 ± 0,0005 b
	1,0	0,0032 ± 0,0006 a	0,0061 ± 0,0004 b
	2,0	0,0031 ± 0,0004 a	0,0058 ± 0,0008 b
Solungaç	Kontrol	0,0623 ± 0,0087 a	0,0662 ± 0,0079 a
	0,2	0,0748 ± 0,0200 a	0,0856 ± 0,0144 a
	1,0	0,0841 ± 0,0208 a	0,1079 ± 0,0183 b
	2,0	0,0787 ± 0,0134 a	0,1022 ± 0,0116 b
Karaciğer	Kontrol	0,2138 ± 0,0136 a	0,2213 ± 0,0140 a
	0,2	0,2113 ± 0,0162 a	0,2178 ± 0,0128 a
	1,0	0,2018 ± 0,0144 a	0,2248 ± 0,0100 b
	2,0	0,1840 ± 0,0088 a	0,2108 ± 0,0154 b

Değerler aritmetik ortalama  $\pm$  standart hata olarak verilmiştir. Aynı satırda farklı harflerle gösterilen veriler arasında  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık vardır.

Kadmiyumun etkisinde kas dokusu G6PD enzim aktivitesi 4. günde tüm konsantrasyonlarda kontrole oranla herhangi bir değişim göstermezken, 30 günlük etki süresinde tüm konsantrasyonlarda kontrole oranla artış göstermiştir. Solungaç dokusu (4. gün 0.2 mg/L Cd hariç) denenen tüm süre ve konsantrasyonlarda kontrole oranla artış göstermiş ve fark anlamlı bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). Karaciğer dokusunda G6PD enzim aktivitesi 4. günde artan konsantrasyon ile azalma göstermiş ancak sadece 2 mg/L konsantrasyon için fark anlamlı bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). 30 günlük etki süresinde ise karaciğerde sadece 1 mg/L konsantrasyon için fark anlamlı diğer konsantrasyonlar için önemsiz bulunmuştur (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Sariağız balığının (*A. regius*) kas, solungaç ve karaciğer dokularında kadmiyum ortam konsantrasyonlarının G6PD enzim aktivitesi üzerine etkisi.

#### 4.6.7. Bakırın dokulardaki glutamat piruvat transaminaz (GPT) enzim aktivitesine etkisi

*A. regius*' da dokulardaki GPT aktivitesi üzerine bakırın süreye bağlı etkileri Çizelge 4.25'de gösterilmiştir. 0.050 ve 0.250 mg/L bakır konsantrasyonlarının etkisinde *A. regius*' da kas dokusunda 30 günlük etki süresinde 4. güne oranla GPT enzim aktivitesi artış gösterirken, karaciğerde (0,05 mg/L hariç) 30 günlük etki süresinde 4. güne oranla GPT enzim aktivitesinde artış gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ) (Çizelge 4.25). Solungaç dokusunda GPT enzim aktivitesinde kontrol ve 0,05 mg/L gruplarında süreler arasında

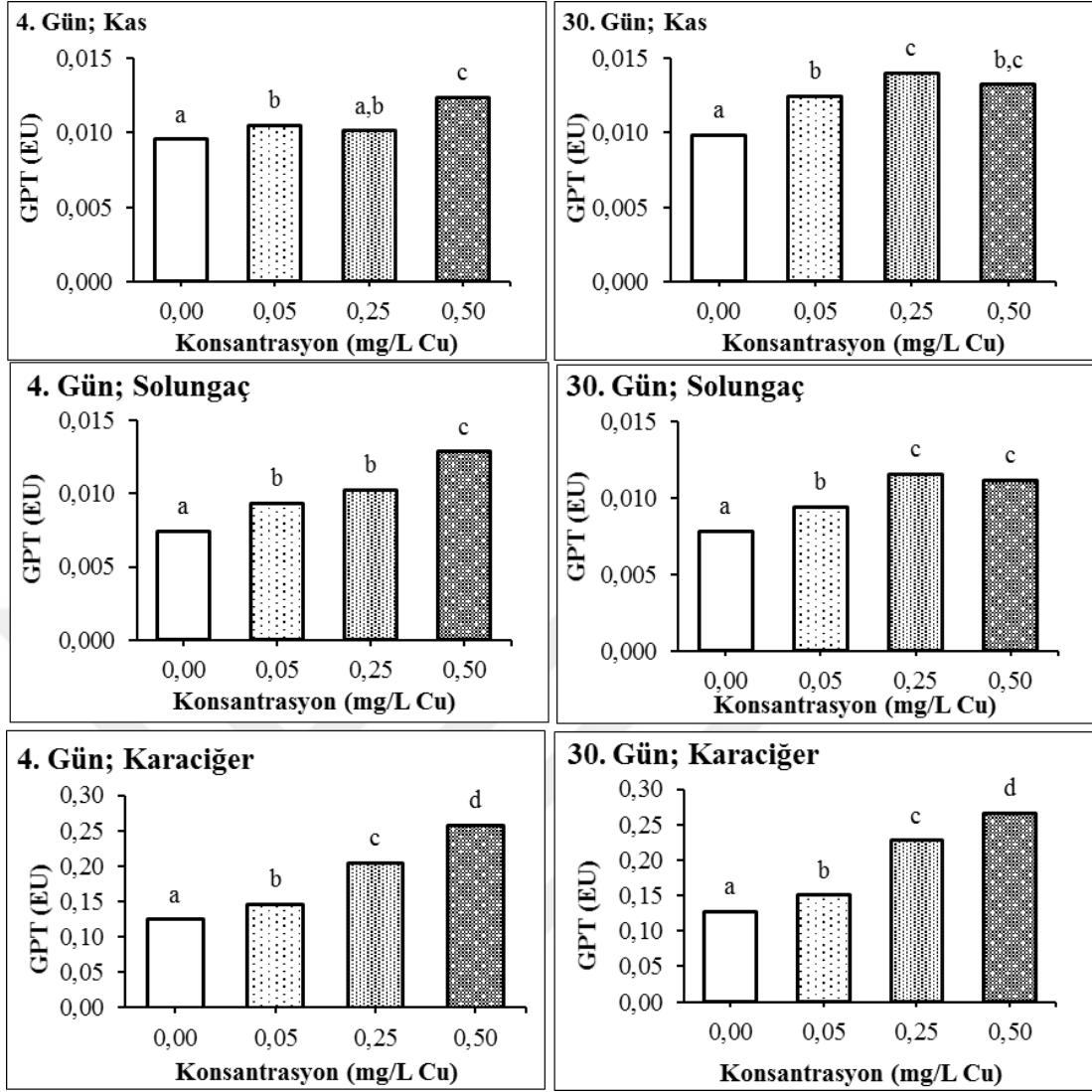
bir fark tespit edilmezken, 0,250 mg/L grubunda artma, 0,500 mg/L grubunda azalma belirlenmiştir (Çizelge 4.25).

Çizelge 4.25. Farklı bakır ortam konsantrasyonlarının etkisinde sarıağız balığının (*A. regius*) kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki bakır birikiminin GPT enzim aktivitesi üzerine (U/mg protein) süreye bağlı etkisi.

Doku	Konsantrasyon mg/L Cu	Süre	
		4. Gün $\bar{X} \pm SD$	30. Gün $\bar{X} \pm SD$
Kas	Kontrol	0,0096 ± 0,0005 a	0,0098 ± 0,0008 a
	0,050	0,0105 ± 0,0009 a	0,0125 ± 0,0010 b
	0,250	0,0101 ± 0,0006 a	0,0140 ± 0,0013 b
	0,500	0,0124 ± 0,0009 a	0,0132 ± 0,0012 a
Solungaç	Kontrol	0,0074 ± 0,0007 a	0,0078 ± 0,0010 a
	0,050	0,0093 ± 0,0017 a	0,0094 ± 0,0008 a
	0,250	0,0102 ± 0,0007 a	0,0116 ± 0,0009 b
	0,500	0,0128 ± 0,0013 a	0,0112 ± 0,0006 b
Karaciğer	Kontrol	0,1243 ± 0,0056 a	0,1268 ± 0,0072 a
	0,050	0,1456 ± 0,0056 a	0,1502 ± 0,0050 a
	0,250	0,2042 ± 0,0046 a	0,2273 ± 0,0041 b
	0,500	0,2573 ± 0,0068 a	0,2658 ± 0,0066 b

Değerler aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırda farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0.05 düzeyinde farklılık vardır.

Bakırın etkisinde kas dokusu GPT enzim aktivitesi (4. günde 0,25 mg/L hariç) tüm süre ve konsantrasyonlarda kontrole oranla artış göstermiştir. GPT enzim aktivitesi karaciğer ve solungaç dokusunda artan bakır konsantrasyonu ile artış göstermiş ve fark anlamlı bulunmuştur (P<0,05) (Şekil 4.7). Karaciğer dokusunda GPT enzim aktivitesi 0,5 mg/L konsantrasyonunda kas dokusunda % 35, solungaçta % 44 ve karaciğerde % 110 oranında artış göstermiştir.



Şekil 4.7. Sarıağız balığının (*A. regius*) kas, solungaç ve karaciğer dokularında bakır ortam konsantrasyonlarının GPT enzim aktivitesi üzerine etkisi.

#### 4.6.8. Kadmiyumun dokulardaki glutamat piruvat transaminaz (GPT) enzim aktivitesine etkisi

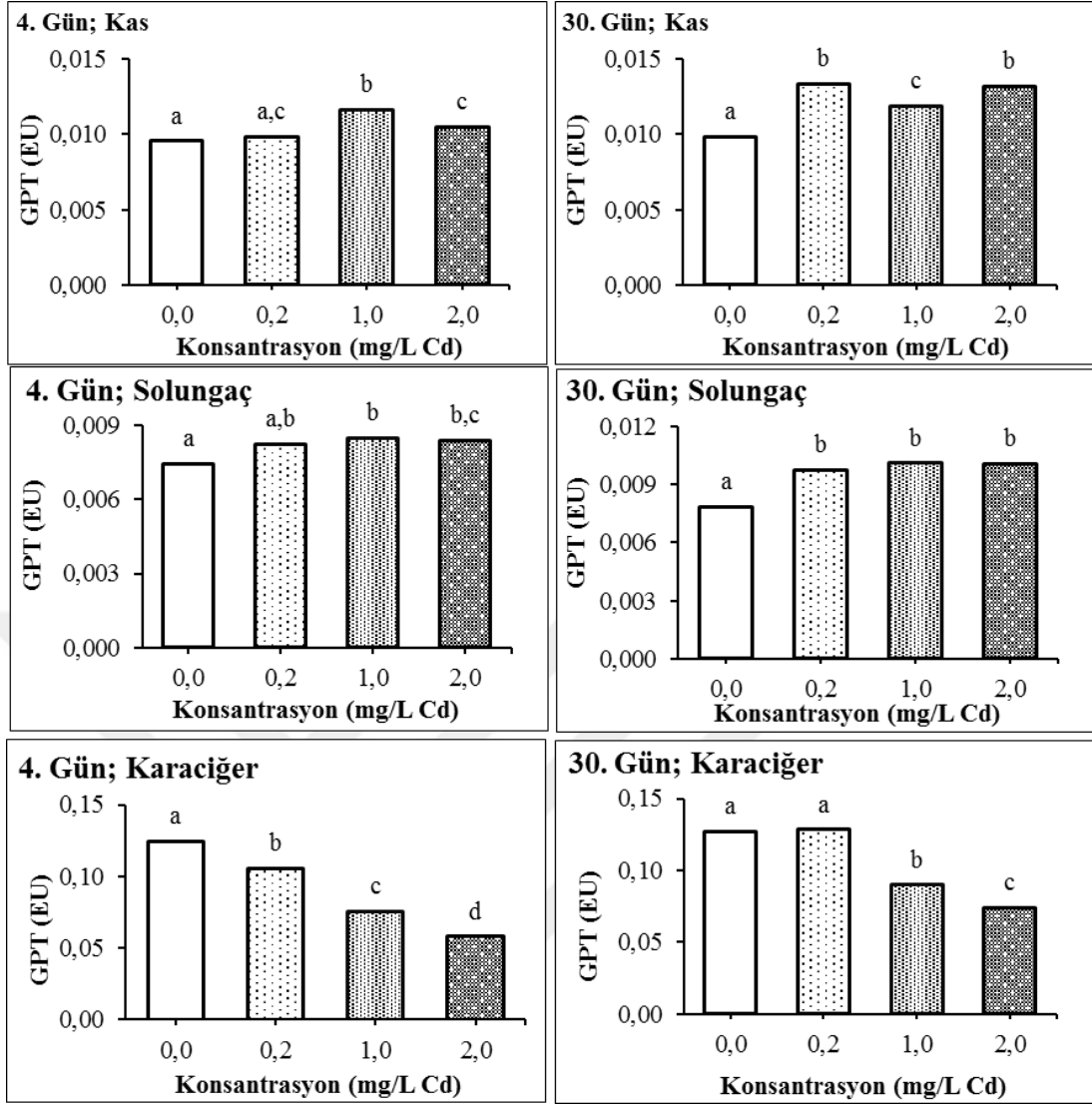
*A. regius*' da dokulardaki GPT aktivitesi üzerine kadmiyumun süreye bağlı etkileri Çizelge 4.26'da gösterilmiştir. 0,2 ve 2,0 mg/L kadmiyum konsantrasyonlarının etkisinde *A. regius*' da kas dokusunda 30 günlük etki süresinde 4. güne oranla GPT enzim aktivitesi artış gösterirken, karaciğer ve solungaç dokularında denenen tüm konsantrasyonlarda 30 günlük etki süresinde 4. güne oranla GPT enzim aktivitesinde artış gözlenmiştir ( $P<0.05$ ) (Çizelge 4.26).

Çizelge 4.26. Farklı kadmiyum ortam konsantrasyonlarının etkisinde sariağız balığının (*A. regius*) kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki bakır birikiminin GPT enzim aktivitesi (U/mg protein) üzerine süreye bağlı etkisi.

Doku	Konsantrasyon mg/L Cd	Süre	
		4. Gün $\bar{X} \pm SD$	30. Gün $\bar{X} \pm SD$
Kas	Kontrol	0,0096 ± 0,0005 a	0,0098 ± 0,0008 a
	0,2	0,0098 ± 0,0008 a	0,0133 ± 0,0017 b
	1,0	0,0117 ± 0,0006 a	0,0119 ± 0,0005 a
	2,0	0,0105 ± 0,0014 a	0,0132 ± 0,0007 b
Solungaç	Kontrol	0,0074 ± 0,0007 a	0,0078 ± 0,0010 a
	0,2	0,0082 ± 0,0012 a	0,0097 ± 0,0006 b
	1,0	0,0085 ± 0,0010 a	0,0101 ± 0,0009 b
	2,0	0,0084 ± 0,0005 a	0,0101 ± 0,0014 b
Karaciğer	Kontrol	0,1243 ± 0,0056 a	0,1268 ± 0,0072 a
	0,2	0,1054 ± 0,0065 a	0,1283 ± 0,0072 b
	1,0	0,0758 ± 0,0035 a	0,0897 ± 0,0055 b
	2,0	0,0579 ± 0,0042 a	0,0742 ± 0,0068 b

Değerler aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırda farklı harflerle gösterilen veriler arasında  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık vardır.

Kadmiyumun etkisinde kas ve solungaç dokusu GPT enzim aktivitesi tüm süre ve konsantrasyonlarda kontrole oranla artış göstermiştir. Karaciğer dokusunda GPT enzim aktivitesi (30. gün 0,2 mg/L Cd hariç) her iki sürede ve tüm ortam konsantrasyonunda kontrole oranla azalmıştır ( $P < 0,05$ ) (Şekil 4.8). Kas dokusunda GPT enzim aktivitesi 1 mg/L grubunda 4. günde % 22 oranında artış göstermişken, 2 ve 0,5 mg/L gruplarında 30. günde % 35 artış göstermiştir. Solungaç dokusunda en yüksek ortam konsantrasyonunda (2 mg/L Cd) 4. günde % 15, 30. günde % 30 oranında GPT enzim aktivitesi artmıştır. Karaciğer dokusunda ise incelenen günlerde yaklaşık % 50 oranında enzim aktivitesinde azalma kaydedilmiştir.



Şekil 4.8. Sarıağız balığının (*A. regius*) kas, solungaç ve karaciğer dokularında kadmiyum ortam konsantrasyonlarının GPT enzim aktivitesi üzerine etkisi.

#### 4.7. Bakır ve Kadmiyumun Dokulardaki Lipid peroksidasyonu (LPO) Üzerindeki Etkileri

Sucul organizmalarda ağır metal kirliliği tarafından indüklenen LPO, tiyobarbitürik asit reaktif madde testi ile ikincil LPO ürününü temsil eden malondialdehit (MDA) oluşumuyla ifade edilir (Draper vd., 1993; Janero 1990). MDA, çeşitli hücresel bileşenlerle yoğun bir şekilde reaksiyona girebilir ve böylece enzimler ve membranlar ciddi şekilde hasar görür ve membranöz elektrik direnci ve akışkanlığı düşer (Kelly vd.,1998). Metal toksisitesinin biyokimyasal değerlendirmesinde, MDA seviyesi LPO derecesi için uygun bir gösterge olarak kabul edilmektedir (Nogueira vd., 2003; Sayeed vd., 2003; Blaha vd., 2004; Almroth vd., 2005). Bundan dolayı bakır ve

kadmiyum uygulamalarının *A. regius* dokularında meydana getirdiği lipid peroksidasyon derecesinin belirlenebilmesi için MDA düzeyleri belirlenmiş ve sonuçlar değerlendirilmiştir.

#### 4.7.1. Bakırın dokulardaki malondialdehit (MDA) düzeylerine etkisi

*A. regius*' da bakır maruz bırakılmasının dokulardaki MDA seviyelerine etkileri Çizelge 4.27 ve Şekil 4.11'de verilmiştir. Bakır konsantrasyonlarının etkisinde *A. regius*' da kas ve solungaç dokusunda 30 günlük etki süresinde 4. güne oranla MDA düzeyleri artış göstermiştir. Bu fark kas dokusunda 0,500 mg/L ve solungaç dokusunda 0,250 mg/L konsantrasyonunda önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.27).

Çizelge 4.27. Farklı bakır ortam konsantrasyonlarının etkisinde sarıağız balığının (*A. regius*) kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki bakır birikiminin MDA düzeyleri üzerine süreye bağlı etkisi.

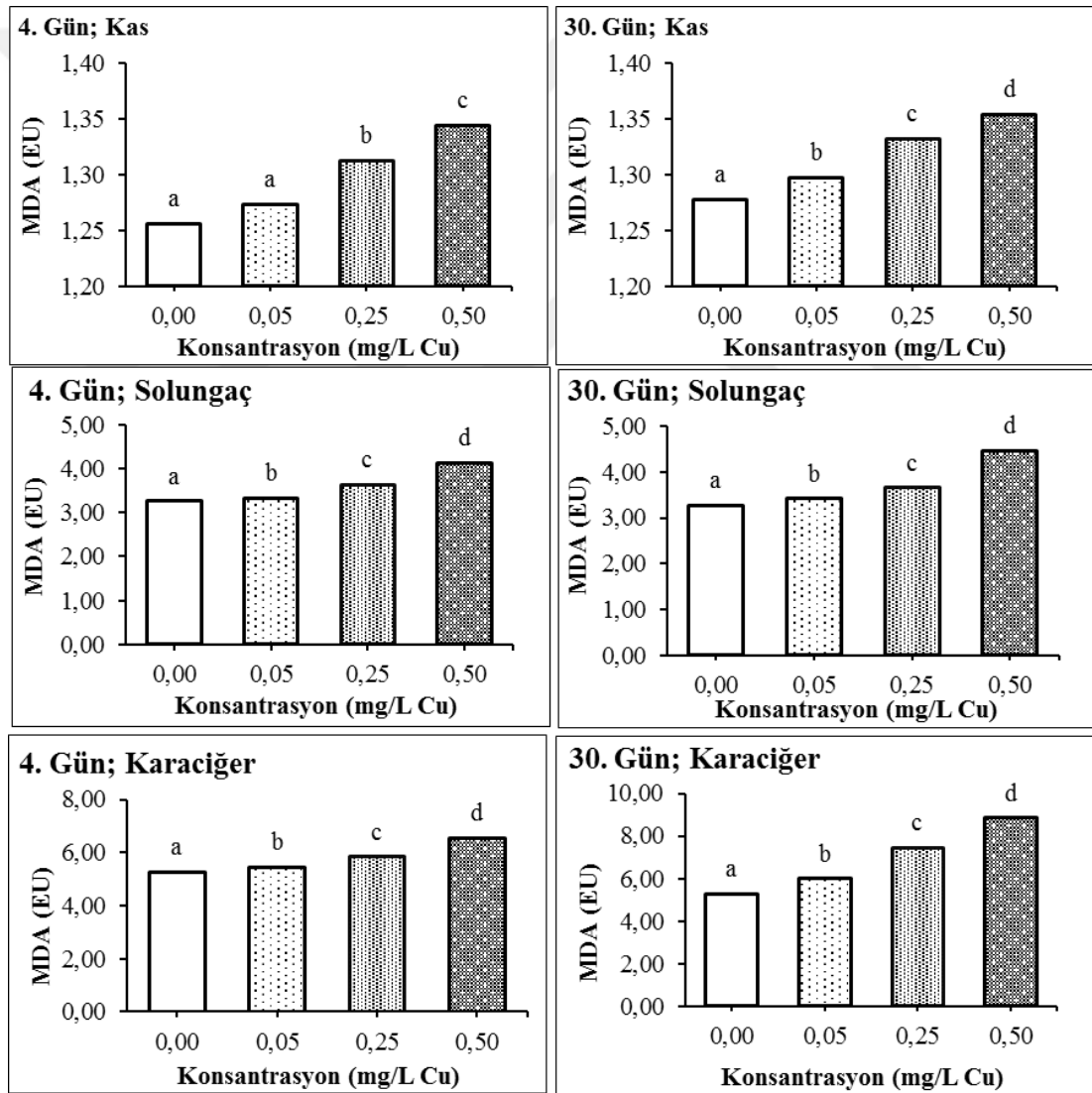
Doku	Konsantrasyon mg/L Cu	Süre	
		4. Gün $\bar{X} \pm SD$	30. Gün $\bar{X} \pm SD$
Kas	Kontrol	1,256 ± 0,020 a	1,277 ± 0,024 a
	0,050	1,274 ± 0,025 a	1,298 ± 0,016 b
	0,250	1,313 ± 0,016 a	1,332 ± 0,019 b
	0,500	1,344 ± 0,015 a	1,354 ± 0,019 a
Solungaç	Kontrol	3,258 ± 0,027 a	3,264 ± 0,037 a
	0,050	3,322 ± 0,025 a	3,414 ± 0,020 b
	0,250	3,627 ± 0,019 a	3,651 ± 0,029 a
	0,500	4,125 ± 0,036 a	4,467 ± 0,033 b
Karaciğer	Kontrol	5,246 ± 0,034 a	5,267 ± 0,026 a
	0,050	5,455 ± 0,034 a	5,986 ± 0,040 b
	0,250	5,831 ± 0,030 a	7,455 ± 0,044 b
	0,500	6,542 ± 0,026 a	8,839 ± 0,038 b

Değerler aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırda farklı harflerle gösterilen veriler arasında  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık vardır.



Karaciğer dokusunda denenen tüm konsantrasyonlarda 30 günlük etki süresinde 4. güne oranla MDA düzeylerinde artış gözlenmiştir ( $P<0.05$ ).

Bakırın etkisinde kas, solungaç ve karaciğer dokularında MDA düzeyleri tüm süre ve konsantrasyonlarda kontrole oranla artış göstermiş ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $P<0.05$ ) (Şekil 4.9). Kas dokusunda MDA düzeyi 4. günde % 7 oranında, 30. günde % 6 oranında artış göstermiştir. Solungaç dokusunda MDA düzeyi 4. günde % 27 oranında artış gösterirken, 30. günde % 37 artış göstermiştir. Karaciğer dokusu MDA düzeyleri 4. günde % 25 oranında artış gösterirken, 30. günde % 68 artış göstermiştir.



Şekil 4.9. Sarıağız balığının (*A. regius*) kas, solungaç ve karaciğer dokularında bakır ortam konsantrasyonlarının MDA düzeyleri üzerine etkisi.

#### 4.7.2. Kadmiyumun dokulardaki malondialdehit (MDA) düzeylerine etkisi

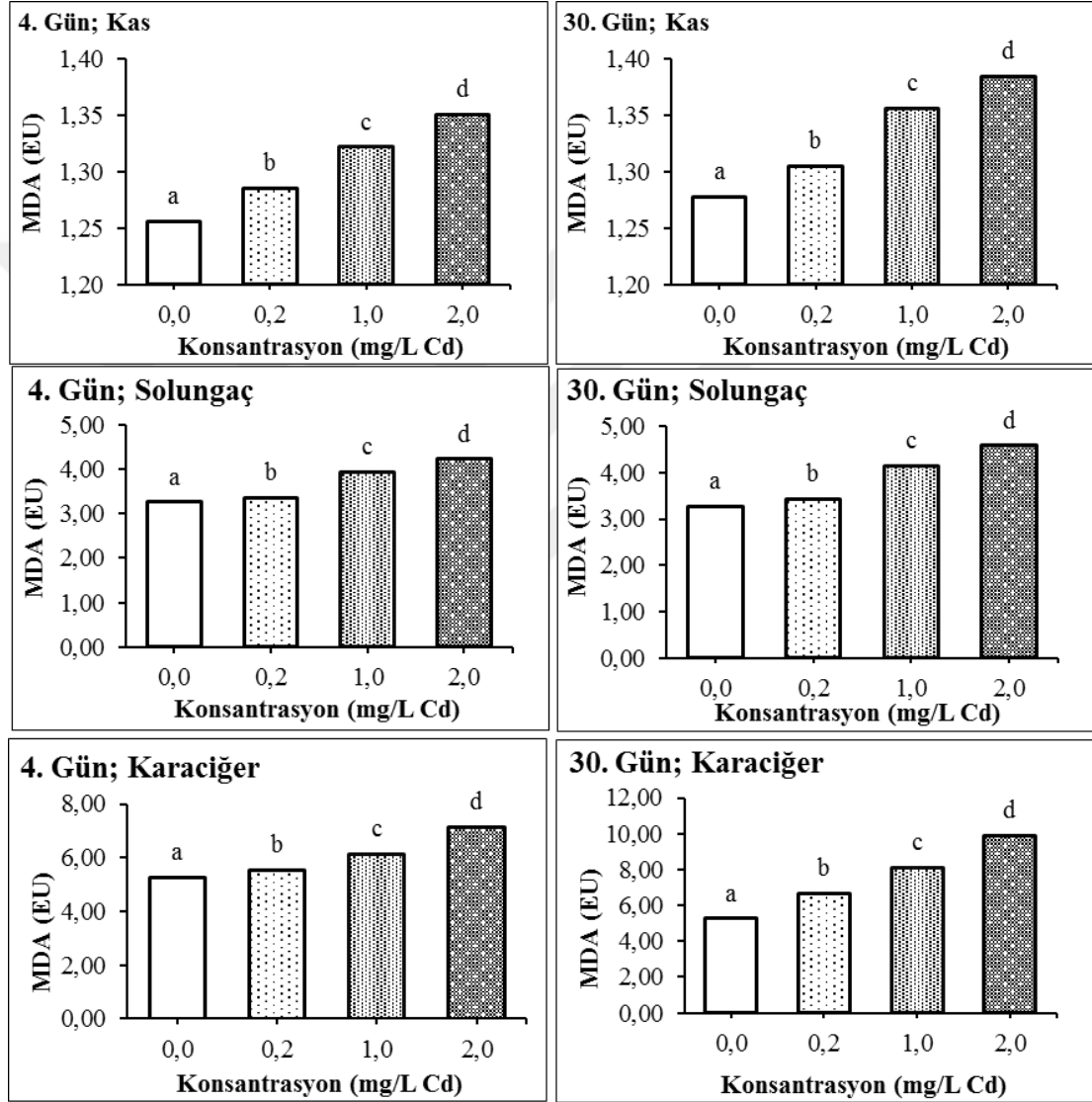
*A. regius*'un kadmiyuma maruz bırakılmasının dokulardaki MDA seviyelerine etkileri Çizelge 4.28 ve Şekil 4.10'da verilmiştir. Kadmiyum konsantrasyonlarının etkisinde *A. regius*' da kas dokusunda 30 günlük etki süresinde 4. güne oranla MDA düzeyleri artış göstermiş ve fark 0,200 mg/L konsantrasyon grubu hariç anlamlı bulunmuştur. Solungaç ve karaciğer dokusunda da denenen tüm konsantrasyonlarda 30 günlük etki süresinde 4. güne oranla MDA düzeylerinde artış gözlenmiş ve fark önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ) (Çizelge 4.28).

Çizelge 4.28. Farklı kadmiyum ortam konsantrasyonlarının etkisinde sarıağız balığının (*A. regius*) kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki bakır birikiminin MDA düzeyleri üzerine süreye bağlı etkisi.

Doku	Konsantrasyon mg/L Cd	Süre	
		4. Gün $\bar{X} \pm SD$	30. Gün $\bar{X} \pm SD$
Kas	Kontrol	1,256 $\pm$ 0,020 a	1,277 $\pm$ 0,024 a
	0,2	1,286 $\pm$ 0,027 a	1,305 $\pm$ 0,015 a
	1,0	1,322 $\pm$ 0,015 a	1,356 $\pm$ 0,014 b
	2,0	1,351 $\pm$ 0,017 a	1,385 $\pm$ 0,018 b
Solungaç	Kontrol	3,258 $\pm$ 0,027 a	3,264 $\pm$ 0,037 a
	0,2	3,364 $\pm$ 0,027 a	3,418 $\pm$ 0,018 b
	1,0	3,944 $\pm$ 0,027 a	4,135 $\pm$ 0,024 b
	2,0	4,224 $\pm$ 0,018 a	4,578 $\pm$ 0,021 b
Karaciğer	Kontrol	5,246 $\pm$ 0,034 a	5,267 $\pm$ 0,026 a
	0,2	5,545 $\pm$ 0,026 a	6,684 $\pm$ 0,026 b
	1,0	6,122 $\pm$ 0,022 a	8,127 $\pm$ 0,018 b
	2,0	7,127 $\pm$ 0,028 a	9,891 $\pm$ 0,025 b

Değerler aritmetik ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırda farklı harflerle gösterilen veriler arasında  $P<0.05$  düzeyinde farklılık vardır.

Kadmiyumun etkisinde incelenen tüm dokularda MDA düzeyleri tüm süre ve konsantrasyonlarda kontrole oranla artış göstermiş ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $P<0.05$ ) (Şekil 4.10). Kas dokusunda MDA düzeyleri hem 4. günde hem de 30. günde % 8 artış göstermiştir. Solungaç dokusunda MDA düzeyi 4. günde % 30 oranında artış gösterirken, 30. günde % 40 artış göstermiştir. Karaciğer dokusu MDA düzeyleri 4. günde % 36 oranında artış gösterirken, 30. günde % 88 artış göstermiştir.



Şekil 4.10. Sarıağz balığının (*A. regius*) kas, solungaç ve karaciğer dokularında kadmiyum ortam konsantrasyonlarının MDA düzeyleri üzerine etkisi.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Çevre kirliliğinin bir göstergesi olarak; özellikle yumuşakçalar ve balıklar gibi canlılarda ölçülen metalik kirleticiler, yaşadıkları ortamda bulunan konsantrasyonlarına bağlı olarak belirli, hatta tehlikeli düzeylere erişebilir. Sucul organizmalarda ağır metal birikimi ve bunun söz konusu canlılarda oluşturduğu tahribat ile hasarların araştırılması, bir taraftan ağır metallere karşı duyarlılığı yüksek olan türlerin belirlenmesini sağlarken, diğer taraftan da anılan canlıların vücut mekanizmalarındaki işleyişlerdeki parametrelerde oluşabilecek reaksiyonların saptanması noktasında oldukça önemlidir. Sediment, su kütlesi ve bu ortamlarda yaşayan canlılarda kirlilik izleme programları ve ekotoksikolojik risk değerlendirme çalışmaları ağır metal yükü olduğu düşünülen ortamlarda periyodik olarak takip edilmelidir. Bu kapsamda sucul ekosistemlerle ilişkili ekotoksikolojik etkilerin araştırılmasında çeşitli omurgasız ve omurgalı test organizmaları kullanılmaktadır. Özellikle son yıllarda model organizma olarak çeşitli türde balıkların kullanılması oldukça yaygınlaşmıştır (Atasayar vd, 2014).

Toksisite testleri, bir biyoindikatör olarak uygun organizmaları tanımlamak ve kimyasallar için su kalitesi standartlarını elde etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Toksisite testleri, su ekosistemlerindeki toksik maddelerin etkisini ve kaderini değerlendirmek için önemli bir araçtır. Ülkemizde, özellikle organizmaların biyoindikatör olarak kullanılmasında ağır metal araştırmaları halen azdır. Bu nedenle, metal toksisitesi hakkında veri toplamak, organizmanın hassasiyetini belirlemek ve Türkiye'nin su topluluklarını koruyabilmesi için izin verilebilir bir sınır elde etme noktasında, kullanılacak yerel organizmalar ile çalışmalar yapılması önem arz etmektedir.

Bu araştırmada canlı materyal olarak kullanılan sarıağız balığı (*Argyrosomus regius*) ticari değeri yüksek deniz balıklarından olup, hızlı büyümesi, yem dönüşüm oranının yüksek olması, geniş tuzluluk aralığında yaşayabilmesi ve kaliteli et yapısı ile yetiştiricilik için büyük potansiyele sahip alternatif bir tür olarak kabul edilmektedir. Bu türdeki uygulamalarda olası Cu ve Cd birikimi ile biyokimyasal etkileri konusunda bilimsel veriler elde etmek için deneysel çalışmalar yapılmıştır.

### 5.1. *Argyrosomus regius* 'da Akut Bakır Toksikitesi

Sparague vd. (1969), akut toksisite testlerini, maddenin konsantrasyonunun organizma için öldürücü olduğunu kanıtladığı, bir maddenin kısa süreli ölümünün ölçümü olarak ifade etmişlerdir (Paruruckumani vd., 2015). Paruruckumani vd. (2015), LC<sub>50</sub> değerinin uygulanması, sucul yaşamdaki kimyasal kirletici maddelerin potansiyel olumsuz etkilerini değerlendirmek için en yüksek düzeyde belirleyici bir test olduğunu bildirmiştir.

Bryan (1976), çözeltilerde ağır metallerin toksisitesini etkileyen bir dizi faktör listelemiştir. Bunlar, çözünmüş metal formunu, diğer metallerin varlığını ve organizmaların fizyolojisi ile davranışını etkileyen faktörleri içerir (Paruruckumani vd., 2015). Bakır, balıklar için oldukça toksiktir ve mevcut araştırmamızda *A. regius* için akut bakır toksisite testinde ilk ölüm zamanları 1 mg/L konsantrasyonunda 72. saat, 2 mg/L'de 18. saat, 5 mg/L'de 10. saat, 10 ve 20 mg/L'de 4. saat ve 40 mg/L'de ise 2. saat olarak kaydedilmiştir. Ayrıca deneme sonunda 96 saat LC<sub>50</sub> 1,643 mg/L Cu olarak tespit edilmiştir.

Wong vd. (1999), gümüş çipura *Sparus sabra* fingerlinglerinde ve juvenillerinde 96 saat LC<sub>50</sub> değerlerini sırasıyla 1,03 ve 1,24 mg/L Cu olarak belirlemişlerdir. İstatistiksel olarak da bakır toleransı bakımından fingerling ve juveniller arasında bir fark bulamamışlardır (Çizelge 5.1). Yang ve Chen (1996), juvenil japon yılan balığı (*Anguilla japonica*) için 96 saat LC<sub>50</sub> değerini 0,34 mg/L Cu olarak belirlemişlerdir. Birdsong ve Avault (1971), juvenil *Trachinotus carolinus* için 96 saat LC<sub>50</sub> değerini 1,97 mg/L Cu olduğunu bildirmişlerdir (Wong vd., 1999). Krishnani vd. (2003), asya levreği (*Lates calcarifer*) yavrularında (11mm) 96 saat LC<sub>50</sub> değerini 1,3 mg/L Cu<sup>+2</sup> olarak bildirmişlerdir (Olivia vd., 2007). Paruruckumani vd. (2015) ise asya levreği (*Lates calcarifer*) juvenillerinde 24, 48, 72 ve 96 saat LC<sub>50</sub> değerlerini 110.83, 93.58, 76.71 ve 68.32 mg/LCu<sup>+2</sup> olarak belirlemişlerdir. Ayrıca Emad vd. (2005), deniz balığı *Mugil seheli* fingerlinglerinde bakır için 96 saat LC<sub>50</sub> değerini 1,64 mg/L Cu<sup>+2</sup> olarak bildirmişlerdir.

Çizelge 5.1. *Sparus sarba* için elde edilmiş bakır LC<sub>50</sub> değerleri (Wong vd., 1999)

<i>Sparus sarba</i>	LC <sub>50</sub> (mg/L Cu)			
	24 saat	48 saat	72 saat	96 saat
Fingerling	2,01 (1,69-3,29)	1,28 (0,98-1,56)	1,17 (0,86-1,47)	1,03 (0,71-1,31)
Juvenil	2,36 (2,14-3,07)	1,52 (1,18-1,88)	1,34 (1,00-1,53)	1,24 (0,84-1,57)

Olivia vd. (2007), çipura (*Sparus aurata*) embriyo ve larvalarında 48 saat LC<sub>50</sub> değerlerini sırasıyla 0,054 ve 0,261 mg/L Cu<sup>+2</sup> olarak belirlemişlerdir. Bu yüzden çipura embriyolarının çipura larvalarına kıyasla bakıra karşı 4-5 kat daha hassas olduklarını görmüşlerdir. Ayrıca Liang vd. (2010), mercan (*Pagrus major*) embriyo ve larvalarında bakır için 48 saat LC<sub>50</sub> değerlerini 0,15 ve 0,52 mg/L Cu<sup>+2</sup> olarak belirlemişler ve embriyoların bakıra karşı larvalardan yaklaşık 3 kat daha duyarlı olduklarını tespit etmişlerdir (Çizelge 5.2).

Çizelge 5.2. *Sparus aurata* (Olivia vd., 2007) ve *Pagrus major* (Liang vd., 2010) embriyo ve larvaları için elde edilmiş bakır LC<sub>50</sub> değerleri

<i>Sparus aurata</i> (Olivia vd., 2007)	LC <sub>50</sub> (mg/L)			
	24 saat	48 saat	72 saat	96 saat
Embriyo	0,076 (0,068-0,093)	0,054 (0,048-0,058)		
Larva		0,261 (0,182-0,375)	0,083 (0,062-0,097)	0,064 (0,048-0,081)
<i>Pagrus major</i> (Liang vd., 2010)	LC <sub>50</sub> (mg/L)			
	24 saat	48 saat	72 saat	96 saat
Embriyo	0,23 (0,19-0,27)	0,15 (0,13-0,17)		
Larva		0,52 (0,46-0,60)	0,19 (0,16-0,23)	0,13 (0,11-0,14)

Balıkların 96 saatlik LC<sub>50</sub> değerleri, türlere, cinsiyete, yaşa, büyüklüğe, sıcaklığa, pH'ya, suyun sertliğine ve özellikle tuzluluğa bağlı olarak değişiklik gösterir (Emad vd., 2005). Çizelge 5.3'de tatlı sularda yaşayan farklı balık türlerine yönelik yapılmış bakır toksisitesi denemelerinden elde edilmiş LC<sub>50</sub> değerleri verilmiştir.

Çizelge 5.3. Farklı balık türleri için bakır LC<sub>50</sub> değerleri

Kaynaklar	Balık Türü	Süre	LC <sub>50</sub> (mg/L Cu)
Bulut vd., 2014	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	24 saat	1,837
		48 saat	1,114
		72 saat	1,093
		96 saat	1,054
Zahedi vd., 2012	<i>Rutilus frisii kutum</i>	24 saat	0,740
		48 saat	0,560
		72 saat	0,454
		96 saat	0,454
Vutukuru vd., 2006	<i>Esomus danricus</i>	48 saat	6,48
		72 saat	4,90
		96 saat	5,50
Joshi ve Prakash, 1990	<i>Noemacheilus rupicola</i>	24 saat	1,58
		48 saat	0,98
		72 saat	0,60
		96 saat	0,23
Batool vd., 2014	<i>Channa marulius</i>	96 saat	32,96
	<i>Wallago attu</i>	96 saat	0,60
Gündoğdu 2008	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	96 saat	0,094
Eyckman vd., 2011	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	96 saat	0,020
	<i>Cyprinus carpio</i>	96 saat	0,065
	<i>Carassius auratus gibelio</i>	96 saat	0,150
Chen vd., 2012	<i>Oreochromis mossambicus</i>	96 saat	2,55
Shuhaimi-Othman vd., 2010	<i>Rasbora sumatrana</i>	96 saat	0,006
	<i>Poecilia reticulata</i>	96 saat	0,038
Levy vd., 2009	<i>Curimata prochilodus vimboides</i>	96 saat	0,047
	<i>Piaculeorinus macrocephalus</i>	96 saat	0,090
Straus, 2006	<i>Ictalurus punctatus</i>	96 saat	1,75
	<i>Marone chrysops</i>	96 saat	0,85
Mazon ve Fernandes, 1999	<i>Prochilodus scrofa</i>	96 saat	0,029

Bulut vd. (2014), *Oncorhynchus mykiss* için 96 saat LC<sub>50</sub> değerini 1,054 mg/L Cu<sup>+2</sup> olarak belirlerken; Gündoğdu (2008), 0,094 mg/L Cu<sup>+2</sup> olarak, Eyckman vd. (2011) ise 0,020 mg/L Cu<sup>+2</sup> olarak belirlemişlerdir. Ayrıca Eyckman vd. (2011), bakır için 96 saat LC<sub>50</sub> değerini *Cyprinus carpio* için 0,065 mg/L Cu<sup>+2</sup> olduğunu, *Carassius auratus gibelio* için 0,150 mg/L Cu<sup>+2</sup> olduğunu ve *Onchynchus mykiss*'in bakıra diğer balık türlerinden daha hassas olduğunu bildirmişlerdir.

Shuhaimi-Othman vd. (2010), *Rasbora sumatrana*'nın *Poecilia reticulata*'dan bakıra karşı çok daha duyarlı olduğunu belirtmişlerdir. Levy vd. (2009)'de *Piacu leorinus* juvenillerinin *Curimata prochilodus* juvenillerine kıyasla bakırdan daha az etkilendiğini bildirmişlerdir. Çizelge 5.3'deki türler incelendiğinde bakıra karşı en hassas türün *Rasbora sumatrana*'nın olduğu, en dayanıklı türün de *Channa marulius*'un olduğu görülmektedir. *Channa marulius* için 96 saat LC<sub>50</sub> değeri 32,96 mg/L Cu<sup>+2</sup> olarak bulunmuştur (Batoool vd., 2014).

Bu sonuçlar, deniz balıkları ile tatlı su balıklarının bakırı tolere edebilme yeteneklerinde, farklılıkların olduğunu göstermektedir. Bu etki kısmen balıkların fizyolojisinin farklı tuzluluktaki sulara farklı olması ve bakır toksisitesine dayanma yeteneklerinde değişikliklere yol açması nedeniyle olabilir. Tuzluluğa ek olarak, su sertliğinin artması balıkların bakır toksisitesine duyarlılığını azaltabilmektedir (Liang vd., 2010). Sert sulara balık solungaçlarından daha az metal vücuda alınmaktadır. Su sertliğine bağlı subletal toksisite değişimleri de letal değişimlere paralellik göstermektedir (Çetinkaya ve Karataş, 2010).

Gerek tatlı gerekse de tuzlu su balıklarının bakır için hesaplanmış LC<sub>50</sub> değerleri *Argyrosomus regius* için bizim elde etmiş olduğumuz değerle (1,643 mg/L Cu<sup>+2</sup>) kıyaslandığında bakırın *Argyrosomus regius* için oldukça toksik olduğu söylenebilir. Literatürlerle karşılaştırıldığında bu değer çoğu balık için elde edilmiş değerlerle paralellik gösterdiği görülmektedir. Bu da suda çözülmüş bakırın *A. regius* için oldukça tehlikeli olduğunu göstermektedir.



## 5.2. *A. regius*'da Akut Kadmiyum Toksisitesi

Kadmiyumun sarıağız balıkları üzerindeki 96 saatlik akut toksisitesi  $LC_{50}= 6,699$  mg/L olarak bulunmuştur. Ayrıca kadmiyumun sarıağız balıkları üzerinde 72 saat  $LC_{50}= 8,049$  mg/L, 48 saat  $LC_{50}= 10,171$  mg/L ve 24 saat  $LC_{50}= 18,645$  mg/L olarak bulunmuştur. Süre uzadıkça kadmiyumun  $LC_{50}$  değeri azalma göstermiştir.

Liang vd. (2010), mercan (*Pagrus major*) embriyolarında kadmiyum için  $LC_{50}$  değerlerini 24 saat için 9,8 mg/L ve 48 saat için 6,6 mg/L olarak, larvalarda ise 24, 48, 72 ve 96 saat  $LC_{50}$  değerlerini sırasıyla 18.9, 16.2, 8.0 ve 5.6 mg/L olarak belirlemişler ve embriyoların kadmiyum toksisitesine larvalardan daha hassas olduklarını belirtmişlerdir. 0,8 mg/L'den yüksek kadmiyum konsantrasyonları düşük kuluçka verimine, kuluçka süresinin uzamasına, yüksek mortaliteye, morfolojik anormalliklere, embriyo ve larvaların uzunluğunun azalmasına yol açmıştır.

Thophon vd. (2003), 30 ppt tuzluluğa sahip doğal deniz suyu kullanarak sürekli havalandırmanın olduğu statik biyodeny koşullarında *L. calcarifer* yavruları ile yaptıkları çalışmada kadmiyum için 96 saat  $LC_{50}$  değerini 20,12 mg/L olarak ve maksimum kabul edilebilir toksikant konsantrasyonunu (MATC) 7,79 mg/L olarak bulmuşlardır. Emad vd. (2005), deniz balığı *Mugil seheli* fingerlinglerinde kadmiyum için 96 saat  $LC_{50}$  değerini 5,36 mg/L olarak belirlemişlerdir. Hamed (1992) ise *Mugil seheli* için kadmiyumun 72 saat  $LC_{50}$  değerini 4,87 mg/L olduğunu bildirmiştir (Emad vd., (2005). Ayrıca El-Moselhy (2001)'de kadmiyumun *Mugil seheli*'ye toksisitesinin, maruz kalma süresinin artmasıyla azaldığını ve  $LC_{50}$  değerlerini 24, 48, 72 ve 96 saatlerde sırasıyla 12.34, 8.92, 6.01 ve 3.45 mg/L olduğunu belirtmiştir. Kadmiyuma duyarlılığı bakımından  $LC_{50}$  değerleri karşılaştırıldığında *A. regius*'un *L. calcarifer*'e göre daha hassas olduğu, ancak *Mugil seheli* ile benzer özellik gösterdiği görülmektedir.

Tatlı su balık türleri üzerinde yapılmış çalışmalarda da kadmiyum toksisitesi bakımından benzer sonuçlar elde edilmiştir. Levy vd. (2009), kadmiyumun 96 saat  $LC_{50}$  değerini *Prochilodus vimboides* juvenilleri için 3,16 mg/L ve *Leporinus macrocephalus* için 7,42 mg/L olarak; Garcia-Santos vd. (2006), Nil tilapiasında (*Oreochromis niloticus*) kadmiyumun 96 saat  $LC_{50}$  değerini 7,42 mg/L olarak; Shukla

vd. (2007), *Channa punctatus* juvenilleri için kadmiyumun 96 saatlik LC<sub>50</sub> değerini 11,8 mg/L olarak; Suresh vd. (1993), *Cyprinus carpio*'da LC<sub>50</sub>'yi 17,1 mg/L olarak bildirmişlerdir. Shuhaimi-Othman vd. (2010), kadmiyuma en hassas türlerin *R. Sumatrana* ile *P. reticulata* olduğunu ve kadmiyumun 96 saat LC<sub>50</sub> değerlerini bu türler için sırasıyla 0,102 mg/L ve 0,168 mg/L olarak bildirmişlerdir. Javed vd. (2016), kadmiyuma en dayanıklı türün *Channa marulius* olduğunu ve 96 saat LC<sub>50</sub> değerlerini *Channa marulius*, *Mystus seenghala* ve *Wallagu attu* için sırasıyla 101.25, 53.28 ve 39.38 mg/L Cd<sup>+2</sup> olarak saptamışlardır.

Bu çalışmadaki toksisite testinin sonuçları Cu iyonik formunun *Argyrosomus regius*'a göre kadmiyumun iyonik formundan daha toksik olduğunu ve juvenillerin kadmiyuma kıyasla bakır toksisitesine karşı daha duyarlı olduğunu göstermiştir. Denton ve Burdon-Jones (1986); Cui vd. (1987) ve Wu vd. (1990) bakırın larva ve yetişkin balık türleri için kadmiyuma göre daha toksik olduğunu (Emad vd., 2005), ayrıca Levy vd. (2009); Emad vd. (2005); Shuhaimi-Othman vd. (2010); ve Shukla vd. (2007) yavru (juvenil) balıklar içinde bakırın kadmiyumdan daha toksik olduğu bildirmişlerdir.

Akut toksisitedeki farklılıklar, su kalitesindeki ve test türlerindeki değişikliklerden kaynaklanabilmektedir. Balık türlerinin belirli bir ağır metale duyarlılığı, LC<sub>50</sub> seviyeleri için çok önemli bir faktördür. Bir metalin toksisitesine karşı oldukça hassas olan balıklar, ekosistemdeki metalin aynı seviyesindeki başka bir metalin toksisitesine daha az veya daha duyarlı olabilmektedir. Buna karşılık, düşük konsantrasyonlarda balık türlerine yüksek derecede toksik olan bir metal aynı veya daha yüksek konsantrasyonlarda diğer türlere göre daha az veya hatta toksik olmayabilir. Stres tepkisinin bir bütün olarak fizyolojik değişiklikler ile karakterize olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir. Akut toksisite çalışmaları, balığın su kalitesinin belirlenmesinde ilk adımdır. Bu çalışmalar, görünüşte kısa dozlamalarda bile balık ölümüne neden olan toksik konsantrasyonları (LC<sub>50</sub>) ortaya koymaktadır. Bu nedenle, ağır metallerin suda yaşayan organizmalarda, özellikle balıklarda, ksenotoksik etkilerinin duyarlılığını gösteren çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu nedenle, bu çalışmadan, sarıağız balığı *A. regius*'un bakıra ve kadmiyuma karşı oldukça duyarlı olduğu sonucuna varılmıştır.

### 5.3. Kronik Subletal Cu Konsantrasyonlarına Maruz Bırakılan *A. regius* Dokularındaki Cu Birikimi

Amiard vd. (1987), balıklarda ağır metal birikiminin, doku ve organlar arasında farklılık göstermekle birlikte genellikle metabolik bakımdan aktif doku ve organlarda yüksek konsantrasyonlarda meydana geldiğini bildirmiştir (Cicik, 2003). *A. regius*'da belirlenen süre ve ortam konsantrasyonunun etkisinde bakır birikimi en fazla karaciğerde olmuş bunu solungaç ve kas dokusu izlemiştir. Metal birikimi bakımından doku ve organlar arasında saptanan bu ayırım, doku ve organların işlevlerindeki farklılıkla açıklanabilir (Cicik, 2003). *A. regius*'da incelenen tüm dokularda artan maruz kalma konsantrasyonu ile dokularda biriken bakır miktarında artış göstermiştir. Yani birikim konsantrasyona bağımlı gerçekleşmiştir.

Bu çalışmadan elde edildiği gibi, Coğun vd. (2003), *O. niloticus* ile 0,1 ve 1 mg/L Cu'a 30 gün maruz bıraktıkları çalışmada; dokulardaki birikimi karaciğer>solungaç> kas şeklinde belirlemişler ve konsantrasyon artışı ile dokulardaki birikiminde arttığını ve aynı zamanda vücut büyüklüğünün kas dokusundaki bakır birikimini etkilemediğini, ancak solungaç ile karaciğer dokularını etkilediğini bildirmişlerdir. Yine Wong vd. (1999), bakırın biyobirikimini gümüş çipura *Sparus sarba* fingerlingleri ve juvenilleri için 0.15, 0.30 ve 0.45 mg/L Cu<sup>+2</sup>'ya 30 gün süreyle maruz kalan balıkların kontrol hayvanlarından daha fazla bakır içerdiğini tespit etmişler ve hem fingerling hem de juveniller için en yüksek bakır konsantrasyonları bağırsakta bulunmuş ve bizim çalışmadakine benzer bir şekilde, dokularda biriken bakır konsantrasyonlarını, bağırsak> karaciğer> gonad> solungaçlar> deri ve kas şeklinde belirlemişlerdir. Ayrıca Cicik (2003), sazan (*Cyprinus carpio*) fingerlingleri 0,5 ve 5 mg/L Cu'a 15 gün süreyle maruz bıraktıkları çalışmada maksimum Cu birikimi karaciğerde olurken, minimum birikimin kas dokusunda meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Erdem ve Kargın (1990), 20 gün süreyle 0.1, 1.0 ve 10.0 mg/L konsantrasyonlarında bakırın etkisine maruz bırakılan balıkların (*Tilapia nilotica*) çalışılan doku ve organlarındaki bakır birikiminin süre ve konsantrasyon düzeyi ile orantılı olarak arttığını saptamışlardır. Bakır birikiminin en fazla dalak en az kas dokusunda olduğu belirlenmiştir. Bakır birikimi bakımından dokular arasındaki ilişki sırası ile şöyle bulunmuştur: Dalak > Karaciğer > Bağırsak > Mide > Solungaç > Kas. Yine Kargın

ve Erdem (1991), 10, 20, 30, 45 ve 60 gün süreyle 0.01, 0.10, 1.00 ve 10 ppm bakır konsantrasyonu maruziyetine bırakılan Sazan (*Cyprinus carpio*)'ların tüm ortam konsantrasyonlarında doku ve organlardaki bakır birikiminin ortam konsantrasyon düzeyi ve ortamda bekletilme süresi ile orantılı olarak arttığı bulunmuştur. Bakır birikiminin en yüksek karaciğerde, en düşük ise kasta olduğu saptanmıştır. Bakır birikimi bakımından dokular arasındaki ilişki ise şöyle bulunmuştur: Karaciğer > Dalak > Mide > Bağırsak > Solungaç > Kas. Ayrıca Kargın ve Erdem (1992), kısa süreli (96 saat) 60 mg/L bakır etkisine bırakılan Tilapia (*Tilapia nilotica*)'nın karaciğer, solungaç ve kas dokularındaki metal birikimini en yüksek karaciğerde ve takiben solungaç ve kas dokularında belirlemişlerdir. Tüm bu sonuçların *A. regius* dokularında elde edilen verilerle uyum içerisinde olduğu görülmektedir.

Mazon ve Fernandes (1999), *P. scrofa* juvenillerini çeşitli konsantrasyonlarda bakıra 96 saat boyunca maruz bıraktıktan sonra solungaç, karaciğer, böbrek, kas ve bağırsak dokularındaki bakır miktarlarını araştırdıkları çalışmada, karaciğerde bakır birikimi diğer dokularla karşılaştırıldığında en fazla bulunmuş, bunu bağırsak ve böbrek izlemiştir. Karaciğer ve böbreklerin toksik maddelerin detoksifikasyonunda ve atılımında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Bu da anılan organlardaki yüksek bakır birikimini açıklamaktadır. Diğer yandan, en az birikimin solungaç ve kas dokusunda olduğunu bildirmişlerdir. Solungaçların, özellikle su ile temas eden geniş yüzey alanı ve hayvanın dış ve iç ortamını ayıran çok ince bariyer nedeniyle, balıkların bakır alımı için ana alan olduğu varsayılmaktadır. Bu durumda, solungaçlardan ve daha az yoğun bir şekilde vücut yüzeyinden metal alımının karaciğere kan akımı yoluyla taşınması, metabolize edilmesi ve daha sonra safra yoluyla atılması kabul edilir. Sudaki artan metal seviyeleri, bakıra bağlı hepatositlerde depolanan metalotiyoninler gibi metal bağlayıcı proteinlerin üretimine yol açar. Metal fazlalığı karaciğerdeki a-globuline bağlanır, seruloplazmin üretir ve böbreklerden atılır. Çok yüksek bakır seviyelerine maruz kalma meydana geldiğinde ve karaciğerin bakır çıkarma kapasitesi aşıldığında, daha toksik olan bakır türleri kan dolaşımından diğer organlara taşınabilir.

#### **5.4. Kronik Subletal Cd Konsantrasyonlarına Maruz Bırakılan *A. regius* Dokularındaki Cd Birikimi**

Ağır metal gibi toksik elementlerin balık, deniz memelileri ve deniz ürünlerinin dokularında biyolojik olarak biriktiği bilinmektedir (Cicik, 2003). Balıklar tarafından ağır metal alınımı su, besin, solungaçlar ve tüm vücut yüzeyinden absorpsiyon yolu ile olsa da dolaşım sistemi aracılığıyla karaciğer, böbrek ve dalak gibi metabolik bakımdan aktif organlara taşınarak birikmektedir. Çeşitli balık türleri ile yapılan araştırmalarda, dokulardaki metal birikiminin metale (Allen, 1995a,b), metalin ortam konsantrasyonuna (Gill vd, 1992), etkide kalma süresine (Suresh et al., 1993), türe (Erdem ve Kargın, 1990) ve türün gelişme evresine (Beaumont et al., 2000) bağlı olarak değişim gösterdiği gibi suyun fiziko-kimyasal özelliklerine (Pagenkopf, 1983) bağlı olarak da değiştiği saptanmıştır (Erdem vd., 2005).

*A. regius* ile yürütülen bu araştırmada kadmiyumun 0,20, 1,00 ve 2,00 mg/L ortam konsantrasyonlarının 30 gün süreli etkisinde mortalite gözlenmemesi belirlenen sürede çalışılan konsantrasyonların türün tolere edebilir sınır içerisinde olduğunu göstermektedir. Balıklarda kadmiyumun doku birikimi, ortam konsantrasyonu ve etkide kalma süresine bağlı olarak artış göstermiştir. Kadmiyumun belirlenen konsantrasyonlardaki etkisi incelenen dokulardaki metal birikimini kontrole oranla önemli düzeyde arttırmıştır. Metal birikimi bakımından incelenen dokular arasında en fazla birikimin karaciğerde, en az birikimin ise kas dokusunda olduğu saptanmıştır. Diğer deniz balıkları gibi, *A. regius* da metale maruz kaldıktan 30 gün sonra kasta düşük bir Cd konsantrasyonu göstermiştir. Bu durum, toplam balık ağırlığının büyük bir kısmını kas dokusunun oluşturması ile açıklanabilir ve böylece metal; bağırsak, karaciğer, böbrek ve solungaç gibi diğer organlarla karşılaştırıldığında, önemli miktarda beyaz kas dokusunda seyreltilmiş olur (Cao vd., 2012).

Suda yaşayan hayvanların dokularındaki metal birikiminin maruz kalma konsantrasyonuna, süresine ve ayrıca tuzluluk, sıcaklık, etkileşime giren ajanlar ve ilgili dokunun metabolik aktiviteleri gibi bazı diğer faktörlere bağlı olduğu kabul edilir (Shukla vd., 2007).

Cirillo vd. (2012), yaptıkları çalışmada, çipurayı (*Sparus aurata*) 11 gün boyunca 0,1 mg/L kadmiyuma maruz bırakarak, Cd birikim yollarını araştırdıkları çalışmada en çok metal birikiminin karaciğerlerde ve solungaçta biriktiğini ve kas dokusunda herhangi bir Cd birikiminin olmadığını bildirmişlerdir. Souid vd. (2013), *Sparusa urata*'nın farklı dokularında Cd (0,5 mg/L)'un kısa süreli maruz kalması (2, 4 ve 24 saat) altında birikimini araştırdıkları çalışmada sonuçların farklı dokulardaki Cd birikiminin metale maruz kalma süresinin uzunluğuna bağlı olarak değiştiğini ve dokulardaki Cd birikimleri büyükten küçüğe doğru; Bağırsaklar, karaciğer, solungaç ve kas şeklinde olduğunu bildirmiştir. Buradan elde edilen bilgiler doğrultusunda kadmiyum birikimi bakımından sariağız (*A. regius*) için bu çalışmada elde edilen bulgular ile çipura (*S. aurata*)'nın benzer özellik gösterdiği anlaşılmaktadır.

Shukla vd. (2007), *Channa punctatus*'u 11,8 mg/L kadmiyuma 4 gün süreyle maruz bıraktıktan sonra dokulardaki metal birikimini inceledikleri çalışmada maksimum kadmiyum birikiminin solungaçlarda olduğunu bildirmişlerdir. Solungaçlar ortama doğrudan temas ettiğinden kısa süreli maruz bırakmalarda başlangıçta solungaçlarda birikim fazla olmakta süre uzadıkça birikimin azaldığı ifade edilmiştir. Costa vd. (2012), solungaçların metali detoksifiye eden en etkili organ olduğunu bildirmiştir. Metal iyonu uzun süreli maruz bırakmalarda genellikle solungaçlarda daha az birikir. Çünkü bunlar Cd birikiminin geçici bir hedef organıdır ve daha sonra Cd sindirim ve üreme organlarına aktarılır ve burada birikir (Wu vd., 2007).

Cattani vd. (1996), levrek *D. labrax*'ı 0,5 ve 5 µg/L kadmiyuma maruz bıraktıklarında 7 gün sonunda her iki konsantrasyon için de dokulardaki birikimi azalan sırayla böbrek, karaciğer ve solungaç şeklinde bulmuşlardır. Kuroshima (1992), tatlı suda 0,3 mg/L kadmiyuma sazan *Cyprinus carpio*'yu ve deniz suyunda ise 10 mg/L kadmiyuma mercan *Pagrus major*, 96 saat süreyle maruz bırakmışlar ve dokulardaki birikimi incelemişlerdir. Sazanın kadmiyuma maruz kalması solungaçlarda en yüksek birikime neden olurken, ardından böbrek, bağırsak ve karaciğerde azalan sırayla birikim göstermiştir. Akut kadmiyuma maruz kalan mercanda ise en yüksek birikim karaciğerde olmuş ve ardından böbrek, bağırsak ve solungaçlara göre azalan sırayla sonuçlanmıştır. *C. carpio*'da kadmiyumun 127 gün süreli etkisinde 53 µg/L ortam konsantrasyonunda, böbreklerdeki kadmiyum konsantrasyonu karaciğerden 4 kat, kasta 50 kat daha yüksek bulunmuş, 443 µg/L Cd konsantrasyonunda ise böbrek

kadmiyum içeriği karaciğerden 2 kat, kasta 100 kat daha yüksek bulunmuştur. *O. mykiss*'de kadmiyum birikimi bakımından incelenen dokuların böbrek>karaciğer>solungaç>kas şeklinde sıralandığı belirlenmiştir (Melgar vd., 1997). Balıklarda kadmiyum etkisi, böbrek dokusunun yanı sıra karaciğer ve dalak gibi metabolik bakımdan aktif dokularda molekül ağırlığı düşük, metal bağlayıcı proteinlerin sentezini arttırmaktadır (Hogstrand ve Haux, 1990). Bu araştırmada en fazla kadmiyum birikiminin karaciğer dokusunda saptanması, metalin metal bağlayıcı proteince bağlanarak bu dokularda alıkonması, lizozomal veziküller tarafından fagosite edilerek tutulması ve dejenere eritrositlerin dalağa taşınarak parçalanması nedeniyle olabileceğini ifade etmişlerdir.

Çoğun vd. (2003), çeşitli su türleriyle yapılan çalışmalarda, karaciğerin metal birikimi için ana organ olduğunu ve aynı zamanda metallerin depolanması, yeniden dağıtılması, detoksifikasyonunda veya dönüşümünde önemli bir rol oynadığını bildirmiştir. Balıklardaki karaciğerlerin kirletici maddeler için iyi bir biyoindeksör organ olarak uygun olduğu kabul edilmektedir. Bu, muhtemelen karaciğerin, çevrelerinden daha yüksek seviyelerde çeşitli türlerdeki kirleticileri biriktirme eğiliminden kaynaklanmaktadır (Galindo vd., 1986). Çoğun vd. (2003), *O. niloticus* ile 0,1 ve 1 mg/L kadmiyuma 30 gün maruz bıraktıkları çalışmada dokulardaki birikimi karaciğer>solungaç> kas şeklinde belirlemişlerdir. Yeşilbudak ve Erdem (2014), *C. carpio* ve *O. niloticus*' 0,5 mg/L kadmiyuma 30 gün maruz bıraktıktan sonra böbrek, karaciğer, solungaç ve kas dokusunda Cd birikimini inceledikleri çalışmada, kadmiyum birikiminin kas dokusu dışındaki tüm dokularda maruz kalma sürelerinin artmasıyla arttığını bildirmişlerdir. Solungaç, böbrek ve karaciğer dokularındaki 30. günde görülen bu artış, ilk güne göre sırasıyla yaklaşık 2, 3 ve 6 kat olarak bulunmuştur. Kadmiyum birikimi, *C. carpio*'nun böbrek dokusunda en yüksek olduğu ve bunu takiben tüm maruz kalma sürelerinde karaciğer, solungaç ve kas dokularında en yüksek olduğu görülmüştür. *O. niloticus*'un dokularında Cd birikiminde belirgin artış, kas dokusu dışında uzun süreli maruz kalma sürelerinde gözlenmiştir. Solungaç kadmiyum seviyeleri 30. günde 1. güne göre dokuz kat artış göstermiştir. En yüksek Cd birikimi de böbrek dokusunda, ardından *C. carpio*'daki gibi karaciğer, solungaç ve kas dokularında saptanmıştır.

Kadmiyumun biyolojik bir işlevinin olmadığı bilinmektedir ve atılım için su ve diğer metabolik atıklarla birlikte böbreğe taşınır. Bu işlem sırasında, metalotiyoninler gibi metal bağlanma proteinlerine yeniden emilimi ve bağlanması, diğer dokularla karşılaştırıldığında böbreklerde ve karaciğerde bulunan yüksek seviyelerde kadmiyumu açıklayabilir (Yeşilbudak ve Erdem, 2014). Kadmiyum birikimi türden türe farklılık gösterir ve maruz kalma süresine bağlıdır (Velma vd., 2009). Ağır metallerin nadiren balık dokularında düzgün dağıldığı ve belirli hedef organlarla biriktiği iyi bilinmektedir. Her doku için metal metabolizmasının spesifik bir rolünün geliştirildiği kabul edilmiştir (Cinier vd., 1999). Türler arasında dokulardaki birikimlerde meydana gelen farklılıklar osmoregülasyon ve detoksifikasyon mekanizmalarındaki farklılıklar ile açıklanabilir.

## **5.5. Subletal Bakır ve Kadmiyuma Maruz Bırakılan *A. regius*'un Dokularındaki Antioksidan Enzim Aktivitelerinin İncelenmesi**

### **5.5.1. Bakır ve kadmiyumun dokulardaki superoksit dismutaz (SOD) enzimi üzerindeki etkileri**

Balıkların, metallerin etkisinden kaynaklanan oksidatif strese karşı enzimatik veya enzimatik olmayan savunma kullandığı bilinmektedir (Basha ve Rani, 2003). SOD'ler, süperoksitin moleküler oksijene ve H<sub>2</sub>O'ya ayrışmasını katalize eden, oksijenden türetilmiş serbest radikallere karşı önemli bir savunma hattını oluşturan önemli bir metaloenzimidir (Fridovich, 1995). Bu çalışmada, bakır ve kadmiyum uygulamaları *A. regius* dokularında oksidatif stres biyobelirteçlerinde bazı değişiklikler meydana getirmiştir. *A. regius*'da belirli bir sürede dokularda SOD aktivitesi üzerine bakırın konsantrasyona bağlı etkileri 4. ve 30. günlerde değerlendirilmiş ve hem 4. günde hem de 30. günde artan bakır konsantrasyonu ile kas ve solungaç dokusunda SOD aktivitesinin arttığı, karaciğerde ise azaldığı tespit edilmiştir. Aynı şekilde kadmiyumun etkisine bırakılan *A. regius* dokularındaki SOD aktivitesinde de benzer değişiklikler gözlenmiştir.

Karaciğer oksidatif stres karşısında diğer dokulardan daha güçlü olduğu ve antioksidan enzim aktivitelerinin en yüksek olduğu önemli bir organdır. Bu, karaciğerin çoklu



oksidatif reaksiyonların ve maksimal serbest radikal oluşumlarının hedef bölgesi olması nedeniyle ilgili olabilir (Gül vd., 2004; Avcı vd., 2005; Messaoudi vd.'den, 2009). SOD-CAT sistemi oksijen toksisitesine karşı ilk savunma sağlar. SOD, CAT aktivitesi ile detoksifiye edilen süperoksit anyon radikalının su ve hidrojen peroksit dismutasyonunu katalize eder. Hem saha hem de laboratuvar çalışmalarında organik veya metalik kirletici maddelere maruz kalan hayvanlarda SOD ve CAT aktivitelerinde çeşitli tepkiler gözlenmiştir. Bu enzimlerin doza, türe veya maruz kalma yoluna bağlı olarak metaller tarafından indüklendiği veya inhibe edildiği gösterilmiştir (Rom'eo vd., 2000; Atli vd., 2006). Dimitrova vd. (1994) genellikle, kirleticilere maruz kalındığında balıkların SOD ve CAT aktivitelerinde eşzamanlı bir etkileşim yanıtı gözlendiğini bildirmişlerdir (Messaoudi vd., 2009).

Ransberry vd. (2015) *Fundulus heteroclitus*' u tatlı su ve deniz suyunda 50 µg/L ve 200 µg/L 96 saat boyunca bakıra maruz bırakıp solungaç ve karaciğerdeki etkilerini araştırdıkları çalışmada karaciğerde deniz suyunda düşük konsantrasyonda bakırın SOD aktivitesini bir miktar artırdığını ancak farkın istatistiki olarak anlamsız olduğunu, ancak yüksek konsantrasyondaki bakıra (200 µg/L konsantrasyon) maruz kalan tatlı sudaki balık solungaçlarında ve düşük konsantrasyona (50µg/L konsantrasyon) maruz kalan deniz suyunda bulunan balıkların solungaçlarında SOD aktivitelerinin azaldığını bildirmişlerdir. Bu durum kısa süreli bakıra maruz bırakılan *A. regius* karaciğeri ile benzer olmakla birlikte solungaçlarda tersi bir durum ile karşılaşmıştır. Eyckman vd. (2011), akut ve kronik bakırın etkisine bıraktıkları 3 balık türünde solungaç SOD aktivitesi ilgili yaptıkları çalışmada, *O.mykiss* ve *C.carpio*'da incelenen her iki konsantrasyonda da (2 ve 50 µg/L; 6,5 ve 50µg/L) solungaç SOD aktivitesinin sadece 3. günde arttığını diğer sürelerde (30 güne kadar) değişmediğini, *Carassius auratus gibelio*'da ise (15 ve 50 µg/L) akut maruz bırakmalarda değişmediği kronik maruz bırakmalarda ise arttığını bildirmişlerdir. Regoli ve Pricipato (1995), farklı bakır konsantrasyonlarına maruz bıraktıkları *M. galloprivincialis*'in solungaç dokusunda SOD aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir. Radi ve Matkovics (1998), farklı konsantrasyonlarda bakıra 24 saat maruz bıraktıkları *C. carpio*'nun kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki SOD aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir. Viyavel vd. (2006) çeşitli konsantrasyonlarda bakıra 96 saat maruz bıraktıkları *Terapon jarbua*'nın karaciğer, böbrek ve dalak dokularında SOD aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda 4 ve 30 günlük sürelerle Cu'ya maruz kalan balıklarda, SOD aktivitesi, sürenin uzamasıyla önemli bir değişim göstermiştir. SOD aktivitesindeki bu değişim, Cu etkisinde oksidatif stresin artması ile ilişkilendirilebilir (Atlı vd., 2006). Dokularda SOD'nin aktivitesindeki artış, yüksek miktarda süperoksit anyon radikalinin üretimini gösterirken, aktivitedeki azalma SOD enziminin inhibe olduğunu göstermektedir.

Kadmiyuma maruz kalan balık dokularında SOD aktivitelerinde çeşitli tepki seviyeleri gözlenmiştir. Shi vd. (2005), 5 mg/L kadmiyuma maruz kalan *Carassius auratus* karaciğerinde SOD aktivitesini arttırdığını bildirmiştir. Kahverengi alabalık (*Salmo trutta*) 15 gün boyunca Cd'ye maruz bırakıldıktan sonra solungaç ve karaciğerde SOD aktivitesi artmış ancak böbrek dokusunda değişmeden kalmıştır (Hansen vd., 2006). 2, 4 ve 8 mg/L Cd'a 28 gün maruz bırakılan japon pisi balığının karaciğerinde yüksek konsantrasyonda (8 mg/L) indüklendiği, solungaç dokusunda ise yüksek konsantrasyonda (8 mg/L) inhibe edildiği görülmüştür (Cao vd., 2012). Messaoudi vd. (2009), deniz balığı *Salaria basilisca* 2 mg/L Cd'a 14 ve 28 gün süreyle maruz bıraktıkları çalışmalarında, karaciğer dokusundaki SOD aktivitesinin 28. günde daha fazla olmak üzere her iki sürede de arttığını bildirmiştir.

Bu araştırma bulgularının aksine Souid vd. (2013), 0,5 mg/L kadmiyuma 24 saat süreyle maruz bıraktıkları *S.aurata* karaciğer dokusunda SOD aktivitesinin ilk 4 saat de artış gösterdiğini 24 saat de ise değişmediğini bildirmiştir. Yine Almedia vd. (2002) çeşitli kadmiyum konsantrasyonlarına 60 gün süreyle maruz bırakılan *O.niloticus*'un kas ve karaciğer dokularında SOD aktivitesinin arttığını belirtmişlerdir. Aynı şekilde Alak vd. (2013) 2 mg/L kadmiyuma maruz bırakılan *Salmo trutta fario*'nun kas ve solungaç dokularında SOD aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir. Zikic vd. (2001) *Carassius auratus gibelio*, Asagba vd. (2008) *Clarias gariepinus*'da farklı süre ve konsantrasyonlarda kadmiyumun etkisine bırakılan balıkların karaciğerinde SOD aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir. Bu bulgular *A. regius* karaciğerinde SOD aktivitesindeki azalmayla uyum göstermektedir.

Karaciğer Cd'un detoksifikasyon ve birikimi için balıkta hedef doku olduğundan (Messaoudi vd., 2009), bu dokuda biriken yüksek Cd konsantrasyonu doğrudan MT ve SOD'u etkilemektedir (Cao vd., 2012). SOD'un kadmiyuma toleransı, MT'nin etkisine bağlanmıştır. MT, kadmiyumu bağlayarak toksisitesini azaltır (Fowler 1989;

Wimmer vd., 2005). Karaciğerin bu çalışmada Cd kaynaklı oksidatif stresi tolere edememesi, bu organın MT'yi hızlı ve verimli bir şekilde yeterince sentezleyemediğinden kaynaklandığı söylenebilir (Asagba vd., 2008). Cd kaynaklı enzimlerin inhibisyonunda çeşitli mekanizmalar bulunmaktadır. Bunlardan biri metallerin aktif metaloenzim bölgesinden ayrılmasıdır. SOD yapısında Zn, Cu ve Mn gibi metalleri bulunduran bir metaloenzimdir (Götz vd., 1994). Bu nedenle; Cd enzimin yapısında bulunan Zn, Cu ve Mn ile yer değiştirmesi sonucu karaciğerde SOD'un aktivitesinin azalmasına neden olduğu söylenebilir.

### **5.5.2. Bakır ve kadmiyumun dokulardaki katalaz (CAT) enzimi üzerindeki etkileri**

CAT enzimi organizmalarda antioksidan mekanizmada anahtar öneme sahip bir detoksifikasyon enzimidir ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi moleküler oksijen ve suya metabolize eder ve böylece SOD-CAT sistemi oksidatif toksisiteye karşı ilk savunma hattını oluşturur (Asagba vd., 2008). Bundan dolayı SOD ve CAT aktivitelerinde eşzamanlı bir yanıt beklenir ve birbirleriyle tanımlı olarak hareket ederler (Cao vd., 2012). *A. regius*'da SOD enzim aktivitesinde olduğu gibi bakır ve kadmiyumun etkisinde dokularda süre ve konsantrasyonun artışıyla CAT aktivitesi kas ve solungaç dokularında artış, karaciğer dokusunda ise azalma göstermiştir. Karaciğer CAT aktivitesindeki bu azalma yüksek bakır konsantrasyonlarının etkisinde strese girmeleri nedeniyle bakıra bir tepki sonucu olduğu düşünülmektedir

Eyckman vd. (2011), bakırın 3 balık türünün solungaç CAT aktivitesi üzerine etkisini inceledikleri çalışmada, *O. mykiss*'de düşük konsantrasyonda (2 µg/L) hem akut hem de kronik etkisinde solungaç CAT aktivitesi artmış, yüksek konsantrasyonda (50 µg/L) akut maruz bırakmada CAT aktivitesi değişmezken uzun süreli maruz bırakmada artış göstermiştir. *C. carpio*'da ise düşük konsantrasyonda (6,5 µg/L) CAT aktivitesi kısa süreli uygulamalarda artarken uzun süreli maruz bırakmada azalmış, yüksek konsantrasyonda ise (50 µg/L) CAT aktivitesi değişim göstermemiştir. *C. auratus gibelio*'da uygulanan her iki konsantrasyonda da (15 ve 50 µg/L) akut ve kronik maruz bırakma sürelerinde CAT aktivitesinde bir değişim gözlemlenmemişlerdir. Atasayar vd. (2014), zebra balığı (*Danio rerio*)'nı 96 saat süreyle 0.1, 0.5, 1 ve 5 mg/L bakıra maruz bıraktıklarında solungaç CAT aktivitesinin düşük konsantrasyonlarda (0,1 ve 0,5

mg/L) değişmediğini, yüksek konsantrasyonlarda (1 ve 5 mg/L) azaldığını bildirmişlerdir. Yine Sampaio vd. (2008), *Piaractus mesopotamicus*'u 0,4 mg/L bakıra 48 saat maruz bıraktıklarında kas ve solungaç dokularında CAT aktivitesinin azaldığını görmüşlerdir. Atlı vd. (2006), Nil tilapiası (*O. niloticus*)'nı 96 saat süreyle 0.1, 0.5, 1 ve 1,5 mg/L bakıra maruz bıraktıkları çalışmada CAT aktivitesinin böbrek ve karaciğer dokularında değişmediğini solungaç dokusunda ise düşük konsantrasyonda (0,1 mg/L) azaldığı diğer konsantrasyonlarda arttığını bildirmişlerdir. Radi ve Matkovics (1998), farklı konsantrasyonlarda bakıra 24 saat maruz bıraktıkları *C. carpio*'nun kas, solungaç ve karaciğer dokularındaki CAT aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir. Liu vd. (2006), 40 gün süreyle 1 mg/L bakırın etkisine bıraktıkları *Carassius auratus*'un karaciğer dokusunda CAT aktivitesinin azaldığını belirtmişlerdir. Yapılan çalışmalar ve bu araştırma sonuçlarından, balıkların bakırın etkisine kısa ya da uzun süreli bırakılması sonucu, kas, solungaç ve karaciğer CAT aktivitesinin değiştiiği görülmektedir.

Bu çalışmada kadmiyuma maruz kalan balık dokularındaki CAT aktivitelerinde artış veya azalma gözlenmiştir. Shi vd. (2005), 5 mg/L kadmiyuma maruz kalan *Carassius auratus* karaciğerinde CAT aktivitesini azalttığını bildirmiştir. Kahverengi alabalık (*Salmo trutta*) 15 gün boyunca Cd'ye maruz bırakıldıktan sonra solungaç dokusunda CAT aktivitesi artmış ancak karaciğer ve böbrek dokusunda değişmeden kalmıştır (Hansen vd., 2006). 2, 4 ve 8 mg/L Cd'a 28 gün maruz bırakılan japon pisi balığının karaciğer, böbrek ve solungaçlarında incelenen tüm konsantrasyonlarda CAT aktivitesinin değişmediği görülmüştür (Cao vd., 2012). Messaoudi vd. (2009), deniz balığı *Salaria basilisca* 2 mg/L Cd'a 14 ve 28 gün süreyle maruz bırakılarak karaciğer dokusundaki CAT aktivitesinin 28 günde daha büyük bir artış olmakla birlikte her iki sürede de arttığını bildirmiştir. Asagba vd. (2008) çeşitli konsantrasyonlarda Cd'a 21 gün maruz bırakılan *Clarias gariepinus* 'un kas, solungaç ve karaciğer dokularında CAT aktivitesinin değişmediğini, Atlı vd. (2006) 96 saat kadmiyuma (0.1, 0.5, 1 ve 1.5 mg/L) maruz bırakılan *O. niloticus* solungaç, böbrek ve karaciğer dokularındaki CAT aktivitesinin değişmediğini, Zikic vd. (2001) 20 mg/L Cd'a 15 gün süreli maruz bıraktıkları *C. auratus gibelio* karaciğerinde artan süre ile CAT aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada görülen karaciğer CAT aktivitesindeki azalmanın, kadmiyumun antioksidan savunma sistemi üzerindeki inhibitör etkisi nedeniyle olabileceği düşünülmektedir.

### **5.5.3. Bakır ve kadmiyumun dokulardaki glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzimi üzerindeki etkileri**

Glukoz-6-Fosfat Dehidrojenaz (G6PD), NADPH nükleotidinin indirgenmesindeki önemli rolünden dolayı sitozolik redoks durumunun sürdürülmesi için gerekli olan kritik bir sitosolik antioksidan enzimdir. NADPH, oksidatif stres durumunu önleyen glutasyon reoksidasyonu için önemli bir kofaktördür. Bu nedenle uzun zamandır bir antioksidan enzim olarak tanınmıştır ve balıklarda karsinogeneze neden olan kirliliğin bir biyobelirteci olarak kullanılmaktadır. Ayrıca G6PDH'nin metabolizmada kirleticilere karşı yüksek duyarlılığa sahip anahtar faktör olduğu bildirilmiştir (Alaa vd., 2010). Yapılan bu çalışmada *A. regius*'da kas ve solungaç G6PD aktivitesi 4. günde bakırdan etkilenmezken, 30. günde artış göstermiş, karaciğer G6PD aktivitesi ise bakır konsantrasyonunun artışıyla azalmış ve bu azalma Cu konsantrasyonları arasında anlamlı bulunmuştur. G6PD aktivitesindeki artış, mitokondri tarafından reaktif oksijen türlerinin üretimini artırmasıyla ilgili olabilir. Bununla birlikte G6PDH aktivitesindeki azalma ise, indirgenmiş glutasyon (GSH) yoluyla detoksifikasyon işlevinde olası bir eksikliği göstermektedir. Buna karşılık, bu tür bir eksiklik kısmen, Carvalho ve arkadaşları tarafından bildirildiği gibi aynı koşullarda tutulan balıkların karaciğerindeki metalotiyonein konsantrasyonunun artışıyla telafi edilebileceği bildirilmiştir. Carvalho ve Fernandes (2008) farklı sıcaklık ve pH'larda çeşitli konsantrasyonlarda 96 saat süreyle bakıra maruz bıraktıkları *Prochilodus lineatus* juvenillerinin karaciğerinde G6PD aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir. Kırıcı vd. (2017), 96 saat süreyle farklı konsantrasyonlarda  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 'a maruz bırakılan *Capoeta umbla* solungaç, böbrek ve karaciğer dokularında artan konsantrasyon ve maruz kalma süresi ile G6PD enzim aktivitesinde azalma kaydetmişlerdir. Bu çalışmada 4 ve 30 gün süre ile kadmiyuma maruz bırakılan *A. regius*'un kas dokusunda G6PD aktivitesi 4. günde etkilenmemiş, 30. günde ise artmıştır, solungaç G6PD aktivitesi incelenen her iki sürede de artış göstermiş, karaciğer G6PD aktivitesi ise bakır konsantrasyonunun artışıyla azalmış ve 4. günde sadece 2 mg/L Cd, 30. günde ise 1 mg/L Cd konsantrasyonlarında fark anlamlı bulunmuştur.

Zirong ve Shijun (2007), Tilapia'da (*O. niloticus*) hepatik glutasyon (GSH) metabolizması araştırdıkları çalışmalarında, tilapia'ları 1, 5, 10, 20 ve 40 gün süreyle 3 mg/L Cd'a maruz bırakmışlardır. G6PD aktivitesinin başlangıçta arttığını, daha sonra azaldığını ancak yinede kontrole kıyasla daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Fırat vd., (2008), *Oreochromis niloticus*'u 0.1 ve 1 mg/L Cd'a 7 ve 28 gün süreyle maruz bırakmışlar, solungaç ve karaciğer dokularında G6PD enzim aktivitesindeki değişimi inceledikleri çalışmada, solungaç ve karaciğer dokularında her iki sürede de G6PD aktivitesinin arttığı, düşük konsantrasyonda ise her iki dokuda da 7. günde değişmediğini 28. günde ise azaldığını bildirmişlerdir. Hisar vd., (2009), Cd'un *O. mykiss*'de 1, 3, 5 ve 7 gün süreyle 1, 3 ve 5 mg/L Cd'a maruz bırakmışlar ve solungaç, karaciğer ile böbrek dokularında G6PD enzim aktivitesindeki değişimi incelemişlerdir. Tüm dokularda konsantrasyon arttı G6PD aktivitesinin arttığını, yüksek konsantrasyonlarda (5 mg/L Cd) en yüksek G6PD aktivitesinin ilk gün görüldüğünü, düşük konsantrasyonlarda. (1 ve 3 mg/L Cd) ise en yüksek aktivitenin 3. günde ve en düşük aktivitenin 7. günde tespit edildiğini bildirmişlerdir. Chen vd. (2013), 6 hafta süreli 0,49 ve 0,95 mg/L Cd'a maruz bıraktıkları sarı yayın balığı *Pelteobagrus fulvidraco* juvenillerinin kas ve karaciğerindeki G6PD aktivitesinin arttığını, Pierron vd. (2007) 5 g/L Cd'a 30 gün bıraktıkları Avrupa yılan balığının karaciğerinde benzer bir artış olduğunu bildirmişlerdir. Gargiula vd (1996), 10 mg/L kadmiyuma 40 gün maruz bıraktıkları *Carassius auratus* böbreğinde G6PD aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir. Benzer bir Şekilde 15, 30, 60 ve 120 gün 1,12 mg/L kadmiyuma maruz bırakılan *Channa punctatus* karaciğerinde G6PD aktivitesinde azalma tespit edilmiştir (Sastry ve Shukla, 1994). Bainy vd. (1996), kirlenmiş nehirlerden topladıkları *O. niloticus*'un solungaç, böbrek ve karaciğer dokularında G6PD aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, glikolitik yolun ve G6PD'nin aktivitesinde meydana gelen artma ve azalmalar ortamda bulunan bakır ve kadmiyumun pentoz fosfat yolundaki aktiviterler üzerine doğrudan etkisi olduğunu göstermektedir. Bakır ve kadmiyuma maruz kalan *A. regius* karaciğerindeki glikolitik enzim aktiviterindeki azalma, bakır ve kadmiyumun olası toksik etkilerini azaltmak için glikoz metabolizması yoluyla enerji kullanılabilirliğini azalttığı dşnlmektedir. Dolayısıyla, bu çalışmada G6PD'nin aktivitesinde gözlenen artma ve azalmalar, NADPH'nin varlığıyla doğrudan bağlantılı olarak, metal stresi sonrası metabolik dengesizliği yansıtmaktadır.

#### 5.5.4. Bakır ve kadmiyumun dokulardaki glutamat piruvat transaminaz (GPT) enzimi üzerindeki etkileri

Glutamat piruvat transaminaz (GPT), karaciğer, kas ve solungaç gibi çeşitli dokulardaki kirlenici maddelerin neden olduğu hasarın teşhisinde sıklıkla kullanılan bir enzimdir (De la Torre vd., 1999). *A. regius*'da incelenen tüm dokularda artan bakır ortam konsantrasyonu ile glutamat piruvat transaminaz (GPT) enzim aktivitesi artış göstermiş ve gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $P<0,05$ ). GPT enzim aktivitesinde en fazla artış karaciğer dokusunda en az ise kas dokusunda tespit edilmiştir.

Kim ve Kang (2004) *Sebastes schlegeli* juvenillerini farklı konsantrasyonlarda bakır içeren yemle 60 gün süre ile besledikleri çalışmada serumdaki GPT aktivitesinin 40 gün sonra 500 mg/kg'da ve 50 gün sonra tüm maruziyet gruplarında anlamlı bir şekilde yükseldiğini bildirmişlerdir. McKim vd. (1970), 38,2 ve 69,2 µg/L Cu'ya 21 günlük maruz kalma sonucunda dere alabalığı (*Salvelinus fontinalis*) serumunda GPT'nin artmasına neden olduğunu ve bunun Cu tarafından karaciğerin hasar görmesinden kaynaklandığını ileri sürmüştür. Vaglio ve Landriscina (1999) karaciğerin GPT bakımından zengin olduğunu ve metallerin karaciğerde birikimindeki artışı sonucu, bu enzimin büyük miktarlarda kanda serbest kalmasına yol açabileceğini öne sürmüştür. Bu nedenle, *A. regius* dokularında meydana gelen GPT aktivitelerinde artış, bakırın karaciğerde neden olduğu hasarın bir sonucu olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada kadmiyum ortam konsantrasyonunun artışı ile kas ve solungaç dokusunda glutamat piruvat transaminaz (GPT) enzim aktivitesi artış gösterirken, karaciğer dokusunda azalmıştır. Konsantrasyonlar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).

Balık karaciğerinde GPT'nin etkinliğinin oldukça değişken olduğu bildirilmiştir (Moon ve Foster, 1995). Ayrıca balıklarda kadmiyumun GPT üzerindeki etkisi de oldukça değişkenlik göstermektedir. Gill vd. (1991) *Barbus conchoniensis*'u, in vivo 12,6 mg/L kadmiyum klorüre ve in vitro  $10^{-6}$  M kadmiyum klorüre 48 saat maruz bıraktıkları çalışmalarında, in vivo denemelerde kadmiyumun karaciğer, solungaç ve böbreklerde GPT aktivitesini inhibe ettiğini, in vitro denemelerde de karaciğer,

solungaçlar ve böbreklerde GPT aktivitesini azalttığını bildirmişlerdir. De la Torre vd. (2000), 14 gün süreyle 1,6 mg/L kadmiyuma maruz bıraktıkları *C. carpio*'nun karaciğerinde GPT aktivitesinin 2 kat artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Vaglio ve Landriscina (1999) 2,5 mg/kg kadmiyumun etkisine 3 ve 6 günlük sürelerle bırakılan *Sparus aurata*'da karaciğer GPT aktivitesinde, 3 gün sonra % 40 ve 6 gün sonra 44 oranında bir azalmanın olduğunu, serumdaki GPT aktivitesinin, kontrol grubundan önemli ölçüde daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. GPT enzim aktivitelerindeki artış, balıklarda zehirlenme ve su kirliliğinin bir göstergesi olarak sıkça kullanılmaktadır (Bucher ve Hofer, 1990). Karaciğer GPT bakımından zengin olduğu için, bu dokuda kirleticilerin neden olduğu hasar, bu enzimin büyük miktarlarının kanda serbest kalmasına neden olabilir. Sastry ve Shukla (1994) Cd'un etkisine 120 gün süreyle bıraktıkları *Channa punctatus*'da GPT aktivitesi karaciğer ve kas dokularında arttığını belirtmişlerdir. Bu araştırmada *A. regius*'da kadmiyumun etkisiyle karaciğer GPT aktivitesinde gözlenen azalma, muhtemelen kadmiyumun enzim yapısını değiştirmesi sonucu olabileceği fikri ile açıklanabilir.

Antioksidan sistemin çeşitli dokulardaki oksidatif strese tepkisi, dokuya özgü antioksidan potansiyellerden kaynaklanan farklılıkları göstermektedir (Ahmad vd, 2000). Bu çalışmada, kas, solungaç ve karaciğer dokularının antioksidan tepkilerinde ve kapasitelerinde farklılıklar bulunmuştur. Doku antioksidan potansiyellerindeki farklılıklarının, serbest radikal oluşum hızlarındaki farklılıklar, oksidatif hasara yatkınlık veya dokuların farklı antioksidan kapasitelerine bağlı olabileceği düşünülmektedir.

#### **5.5.5. Bakır ve kadmiyumun dokulardaki lipid peroksidasyonu (LPO) üzerindeki etkileri**

Sucul organizmalarda ağır metal kirliliği tarafından indüklenen LPO, tiyobarbitürik asit reaktif madde testi ile ikincil LPO ürünü temsil eden malondialdehit (MDA) oluşumuyla ifade edilir (Draper vd.,1993; Janero 1990). MDA, çeşitli hücresel bileşenlerle yoğun bir şekilde reaksiyona girebilir ve böylece enzimler ve membranlar ciddi şekilde hasar görebilirler (Kelly vd.,1998). Metal toksisitesinin biyokimyasal değerlendirmesinde, MDA seviyesi LPO derecesi için uygun bir gösterge olarak kabul edilmektedir (Nogueira vd., 2003; Blaha vd., 2004; Almroth vd., 2005). Livingstone



(2001)'a göre, MDA olarak ölçülen LPO, bakır, kadmiyum ve demire maruz kalan balıklarda toksik kirleticilerin etkili bir biyobelirteci olarak kullanılmaktadır.

Bakırın farklı konsantrasyonlarının etkisine bırakılan *A. regius*'un kas, solungaç ve karaciğer dokularında LPO düzeyleri kontrol balıklarıyla karşılaştırıldığında denenen her iki sürede de artış göstermiştir. En yüksek peroksidatif hasar veya MDA düzeyleri karaciğerde 30. günde (% 68) gerçekleşmiş bunu solungaç 30. günde (% 37) ve kas dokusu (% 6) izlemiştir. İncelenen tüm dokularda meydana gelen peroksidatif hasarın doza ve süreye bağımlı olduğu görülmüştür. Benzer bulgular kadmiyum etkisine bırakılan *A. regius*'un kas, solungaç ve karaciğer dokularında da tespit edilmiştir.

Bakırın etkisinde MDA düzeyinde meydana gelen inhibisyon ve indüksiyon aktiviteleri, farklı balık türlerinde çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir. Yonar vd. (2016) bakır sülfatın alabalık solungaç ve karaciğer MDA seviyelerinde bir artışa neden olduğunu bildirmiştir. Trivedi vd. (2012) farklı konsantrasyonlarda 24 saat bakır sulfata maruz bırakılan *Carassius auratus* karaciğerinde MDA seviyesinin arttığını, fakat doza bağımlı olmadığını tespit etmiştir. Juliana vd. (2016) 5, 9 ve 20 µg/L bakıra 96 saat maruz bırakılan *Prochilodus lineatus* juvenillerinin karaciğer LPO düzeyinin arttığını bildirmişlerdir. Vieira vd. (2009) 0,568 mg/L bakıra 96 saat maruz bırakılan haliç balığı *Pomatoschistus microps* karaciğerinde LPO seviyesini arttığını bildirmişlerdir.

*A. regius*'ta ölçülen LPO değerleri, çeşitli balık türleri için bildirilenlerle uyum içindedir (Flohe vd., 1997; Almeida vd., 2002; Pandey vd., 2008). Souid vd. (2013), 2, 4 ve 24 saat süreyle 0,5 mg/L Cd'ye maruz bıraktıkları çipura (*Sparus aurata*) karaciğer dokusunda 2 ve 4. saatlerde MDA düzeyinin değişmediğini, fakat 24 saat de MDA düzeyinin yaklaşık % 50 oranında arttığını bildirmiştir. Cd, ROS oluşumunda bir artışa yol açtığı, bununda karaciğer, böbrekler ve solungaçlarda peroksidatif hasara neden olduğu bildirilmiştir (Stohs vd., 2000; Miyamoto vd., 2003). Bu çalışmada *A. regius*'un incelenen dokularında kontrol ile kıyaslandığında MDA'daki gözlenen artış, kadmiyuma maruz kaldıktan sonra büyük bir olasılıkla ROS'un aşırı oluşumuna bağlanabilir.

Balıklar ortamda bulunan yüksek konsantrasyonlardaki ağır metalleri dokularında biriktirirler ve bu metaller reaktif oksijen türlerini (ROS) üretebilirler. Bu da LPO ve antioksidan enzim aktivitelerinde değişikliklerine neden olur (Soares vd., 2008). Florence vd. (2002) bakırın lipid peroksidasyonuna neden olan toksik hidroksil radikali (OH $\cdot$ ) üretimini katalize ettiğini bildirmiştir. Aynı şekilde, Souid vd. (2013) kadmiyumun, süperoksit anyonunun ve hidrojen peroksitin bir hidroksil radikaline dönüşümüne yardımcı olan fenton reaksiyonunun katalizörü olarak görev yapabileceğini ve bu molekül türlerinin sıklıkla lipid peroksidasyonunun bir tetikleyicisi olduğunu (Stohs ve Bagchi, 1995; Filho, 1996) bildirmişlerdir.

Bu çalışma, bakır ve kadmiyumun, balık dokularında lipid peroksidasyonunda artışa neden olduğu gibi oksidatif strese sorumlu olduğu ve antioksidan savunma mekanizmalarını etkilediğini ortaya koymuştur. Bakır ve kadmiyumun lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerindeki etkisi doku, konsantrasyon ve süreye bağlı olduğu bulunmuştur. Karaciğer çalışılan dokular arasında en yüksek LPO indüksiyonunu göstermiş ve tüm dokular metallerin farklı konsantrasyon ve sürelerinin etkisinde antioksidan enzim aktivitelerinde değişiklik göstermişlerdir.

## 5.6. Sonuç

Akut toksisitedeki farklılıklar, su kalitesindeki ve test türlerindeki değişikliklerden kaynaklanabilmektedir. Bir metalin toksisitesine karşı oldukça hassas olan balıklar, ekosistemdeki metalin aynı seviyesindeki başka bir metalin toksisitesine daha az veya daha duyarlı olabilmektedir. Buna karşılık, düşük konsantrasyonlarda balık türlerine yüksek derecede toksik olan bir metal aynı veya daha yüksek konsantrasyonlarda diğer türlere göre daha az veya hatta toksik olmayabilir. Elde edilen sonuçlardan, bakır ve kadmiyum konsantrasyonlarının sarıağız balıklarının LC<sub>50</sub> değerleri üzerinde doğrudan etkisi olduğu açıktır. Bu nedenle, bu çalışmadan, sarıağız balığı *A. regius*'un bakıra ve kadmiyuma karşı oldukça duyarlı olduğu sonucuna varılabilir. Bu da suda çözülmüş bakır ve kadmiyumun *A. regius* için oldukça tehlikeli olduğunu göstermektedir.

Balıklarda ağır metal birikimi, doku ve organlar arasında farklılık göstermekle birlikte genellikle metabolik bakımdan aktif doku ve organlarda yüksek konsantrasyonlarda meydana gelmektedir. *A. regius*'da belirlenen süre ve ortam konsantrasyonunun etkisinde bakır ve kadmiyum birikimi en fazla karaciğerde olmuş bunu solungaç ve kas dokusu izlemiştir. Metal birikimi bakımından doku ve organlar arasında saptanan bu farklılık, doku ve organların işlevlerindeki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. *A. regius*'da incelenen tüm dokularda artan maruz kalma konsantrasyonu ile dokularda biriken bakır ve kadmiyum miktarında artış göstermiş, birikim konsantrasyona bağımlı gerçekleşmiştir.

Kadmiyum ve bakır; antioksidan enzim aktiviteleri bakımından sarıağz balığının dokuları arasında (kas, karaciğer ve solungaç) farklı tepkiler göstermiştir ve en fazla değişim karaciğer dokusunda tespit edilmiştir. Yine maruz bırakma süresi ve konsantrasyon artışı ile enzim aktivitelerinde belirgin değişimler görülmüştür.

Kadmiyum ve bakır gibi metal iyonlarına maruz kalan sarıağz balıklarında, doza bağlı olarak antioksidan enzim aktivite yanıtları indüklenme ya da inhibe olma yönünde farklılık göstermiştir. Metallerle karşı dokulardaki antioksidan enzimlerin verdiği tepkiler çalışmalara göre farklılık göstermektedir. Bu çelişkilerden dolayı sucul organizmalarda ağır metal birikim ve hasarlarının incelendiği araştırmaların yapılması, bu metallerle karşı duyarlılığı yüksek olan türlerin belirlenmesinin yanı sıra organizmada meydana gelebilecek biyokimyasal, fizyolojik, yapısal ve işlevsel bozuklukların belirlenmesi açısından da önem taşımaktadır.

Bu çalışmanın sonuçları risk belirlenmesinde bakır ve kadmiyum'un etkileri hakkında bilgi sağlamaktadır. Bulgular *A. regius*'a konsantrasyonlarının potansiyel etkilerine ait bilgilerin ortaya çıkarılmasında katkıda bulunacaktır. Çalışmamızın sonuçları, balıklarda oksidatif stres için biyolojik belirteçlerin değerlendirilmesinde bir katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Bakır ve kadmiyum'un *A. regius*'un dokularında LPO miktarları ve SOD, CAT, GPT, G6PD enzim aktivitesine etkileri ile ilgili yeni bilgiler sağlaması nedeniyle toksikoloji alanındaki çalışmalara katkı sağlayacaktır. Bulgularımız doğada sürdürülen kirlilik izleme programlarında kullanılabilir.

## KAYNAKLAR

- Accornero, A., Manfra, L., Salluzzo, A. & Modestia F. (2004). Trace metal pollution in surface marine waters: Near shore concentrations along Apulia and Albaniaa, Chemistry and Ecology, 20(1), 195–203. doi:10.1080/02757540310001639782.
- Aebi, H. (1984). Catalase İn Vitro. Method in Enzymology, 105, 121-126
- Agrahari, S., Pandey, K.C. & Gopal, K. (2007). Biochemical alteration induced by monocrotophos in the blood plasma of fish *Channa punctatus* (Bloch). Pest Biochem Physiol., 88, 268–272. doi:10.1016/j.pestbp.2007.01.001.
- Ahmad, I., Hamid, T., Fatima, M., Chand, H. S., Jain, S. K., Athar, M. & Raisuddin, S. (2000). Induction of hepatic antioxidants in freshwater catfish (*Channa Punctatus* Bloch) is a biomarker of paper mill effluent exposure. Biochimica et Biophysica Acta, 1519, 37–48. doi: S0304-4165(00)00098-2.
- Akbulut, C., Kaymak, G., Esmer, H.E., Yön, N.D. & Kayhan, F.E. (2014). Oxidative stress mechanisms induced by heavy metals and pesticides in fish. Ege J. Fish Aquatic Sci., 31(3), 155-160. doi:10.12714/egejfas.2014.31.3.07.
- Aldini, G., Dalle-Donne, I., Facino, R.M., Milzani, A. & Carini, M., (2007). Intervention strategies to inhibit protein carbonylation by lipoxidation-derived reactive carbonyls. Medicinal Research Reviews, 27(6), 817-868. doi:10.102/med.20073.
- Alaa G.M.O., Abd-El-Baset M. Abd El R., Khalid, Y.A.F. & Ali G.G.R. (2010). Enzymatic and histopathologic biomarkers as indicators of aquatic pollution in fishes. Natural Sciences, 2(11), 1302-1311. doi:10.4236/ns.2010.211158.
- Alak, G., Atamanalp, M., Uçar, A., Arslan, H., Şensurat, T., Parlak, V. & Kocaman, E.M. (2013). Investigation of humic acid effects versus cadmium toxicity on hematological parameters of brown trout (*Salmo trutta fario*). Ege J Fish Aqua Sci, 29(4), 181-185. doi:10.12714/egejfas.2012.29.4.06.
- Allen, P. (1995a). Chronic accumulation of cadmium in the edible tissue of *Oreochromis aureus* (Steindachner); Modification by mercury and lead. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 29(1), 8-14.
- Allen, P. (1995b). Soft-tissue accumulation of lead in the blue tilapia, *Oreochromis aureus* (Steindachner), and the modifying effects of cadmium and mercury. Biol. Trace. Elem. Res., 50(3), 193-208. doi:0163/4984/95/5003-0193.
- Almeida, J.A., Diniz, Y.S., Marques, S.F., Faine, L.A., Ribas, B.O., Burneiko, R.C. & Novelli, E.L. (2002). The use of the oxidative stress responses as biomarkers in nile tilapia (*Oreochromis Niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination. Environment International, 27, 673-679. doi:S0160-4120(01)00127-1.

- Almroth, B.C., Sturve, J., Berglund, A. & Forlin, L. (2005). Oxidative damage in eelpout (*Zoarces viviparous*), measured as protein carbonyls and tbars, as biomarkers. *Aquat Toxicol*, 73, 171–180. doi:10.1016/j.aquatox.2005.03.007.
- Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C. & Metayer, C. (1987). Comparative study of the patterns of bioaccumulation, toxicity and regulation of some metals in various estuarine and coastal organisms. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 106, 73-89. doi: 0022-0981/87/\$03.50.
- Antonenkov, V.D. (1989). Dehydrogenases of the pentose phosphate pathway in rat liver peroxisomes. *European Journal of Biochemistry*, 183,75-82.
- Asagba, S.O., Eriyamremu, G.E. & Igberaese, M.E. (2008). Bioaccumulation of cadmium and its biochemical effect on selectedt issues of the catfish (*Clarias gariepinus*). *Fish Phys. Biochem.*, 34, 61–69. doi:0.1007/s10695-007-9147-4.
- Atabeyoğlu, K. (2011). Bazı Ağır Metallerin Subletal Dozlarının Gökkuşağı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) Katalaz, Süperoksit Dismutaz, Gulutatyon Peroksidaz Enzim Aktiviteleri ve mrna Ekspresyonları Üzerine Etkileri. (Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü)
- Atasayar, Ü.Z., Koldemir, M., Duman, B.S., Sesal, N.C. & Kayhan, F.E., 2014. Effects of heavy metal induction on oxidative stress parameters in zebrafish (*Danio reiro*). *Journal of Fisheries Sciences*, 8(3), 199-207. doi:10.3153/jfscom.201425.
- Atlı, G., Alptekin, O., Tukel, S. & Canlı, M. (2006). Response of catalase activity to  $Ag^+$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cr^{6+}$ ,  $Cu^{2+}$  And  $Zn^{2+}$  in five tissues of freshwater fish *Oreochromis niloticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 143, 218-234. doi:10.1016/j.cbpc.2006.02.003.
- Authman, M.M.N., Zaki, M.S., Khallaf, E.A. & Abbas, H.H. (2015). Use of fish as bio-indicator of the effects of heavy metals pollution. *J. Aquac. Res. Development*, 6(4), 1-13. doi:10.4172/2155-9546.1000328.
- Avcı, A., Kaçmaz, M. & Durak, I. (2005). Peroxidation in muscle and liver tissues from fish in a contaminated river due to petroleum refinery industry. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 6, 101–105. doi:10.1016/j.ecoenv.2003.10.003
- Aydemir, T. & Tarhan, L. (2001). Purification and partial characterization of superoxide dismutase from chicken erythrocytes. *Turkish Journal of Chemistry*, 24, 451-459
- Bainy, A.C.D., Saito, E., Carvello, P.S.M. & Junqueira, V.B.C. (1996). Oxidative stress in gill and kidney of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from a polluted site. *Aquat Toxicol*, 34, 151–162. doi:0166-445X(95)00036-4.

- Basha, P.S. & Rani, A.U. (2003). Cadmium-induced antioxidant defense mechanism in freshwater teleost *Oreochromis mossambicus* (Tilapia). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56, 218-221. doi:10.1016/S0147-6513(03)00028-9.
- Batool, M., Sajid, A. & Javed, M. (2014). Behavioral intoxication of *Channa marulius* and *Wallago attu* during acute exposure of cadmium and copper. *Pakistan Journal of Life And Social Sciences*, 12(1), 7-15. doi: 2221-7630.
- Blaha, L, Kopp, R., Simkova, K. & Mares, J. (2004). Oxidative stress biomarkers are modulated in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val) exposed to microcystin-producing cyanobacterial water bloom. *Acta Veterin BRNO*, 73, 477-482.
- Beaumont, M.W., Butler, P.J. & 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. doi:10.1242/jeb.00060.
- Bechard, K.M., Gillis, P.L. & Wood, C.M. (2008). Trophic transfer of Cd from larval Chironomids (*Chirono musriparius*) exposed via sediment or waterborne routes, to zebrafish (*Danio rerio*) tissue-specific and subcellular comparisons. *Aquatic Toxicology*, 90, 310-321. doi:10.1016/j.aquatox.2008.07.014.
- Bublitz, C. & Steavenson, S. (1988). The pentose phosphate pathway in the endoplasmic reticulum. *The Journal of Biological Chemistry*, 263, 12849-53.
- Beutler, E., 1975. *Red Cell Metabolism*. Grune And Starton, 2nd Ed., New York.
- Bilecenoğlu, M., Kaya, M., Cihangir, B. & Çiçek, E. (2014). An updated checklist of the marine fishes of Turkey, *Turk J Zool*, 38, 901-929. doi:10.3906/zoo-1405-60.
- Birdsong, C.L. & Avault, J.A. (1971). Toxicity of certain chemicals to juvenile pompano. *Prog. Fish. Culture*, 33, 76. doi:10.1577/1548-8640(1971)33[76:TOCCTJ]2.0.CO;2.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Bio-chemistry*, 72, 248-254
- Bryan, G.W. 1976. Some aspects of heavy metal tolerance in aquatic organisms. in: apm. lockwood, ed, effects of pollutants on aquatic organisms. Cambridge University Press, Cambridge, England, 7-34.
- Bulut, C., Çetinkaya, O. & Kubilay, A. 2014. Bakırın (Cu<sup>+2</sup>) gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) üzerine akut toksisitesi. *Yunus Araştırma Bülteni*, 1, 31-39. doi:10.17693/yunus.04465

- Bucher, F. & Hofer, R. (1990). Effect of domestic wastewater on serum enzyme activities of brown trout (*Salmo trutta*). *Comp. Biochem. Physiol. C*, 97, 381-385. doi:0306492/90\$3.00.
- Cao, L., Huang, W., Liu, J., Yin, X. & Dou, S. (2010). Accumulation and oxidative stress biomarkers in Japanese flounder larvae and juveniles under chronic cadmium exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 151(3), 386-392. doi:10.1016/j.cbpc.2010.01.004.
- Cao, L., Huang, W., Shan, X., Ye, Z. & Dou, S. (2012). Tissue-specific accumulation of cadmium and its effects on antioxidative responses in Japanese flounder juveniles. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 33, 16-25. doi:10.1016/j.etap.2011.10.003.
- Carpene, E., Serra, R., Manera, M. & Isani, G. (1999). Seasonal changes of zinc, copper, and iron in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed fortified diets. *Biol Trace Elem Res.*, 69, 121-139. doi:0163-4984/99/6902-0121 \$14.75.
- Carvalho, M.L., Santiago, S. & Nunes, M.L. (2005). Assessment of the essential element and heavy metal content of edible fish muscle. *Anal. Bioanal. Chem.*, 382, 426-432. doi:10.1007/s00216-004-3005-3.
- Carvalho, C.S. & Fernandes, M.N. (2008). Effect of copper on liver key enzymes of anaerobic glucose metabolism from freshwater tropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 151A, 437-442. doi:10.1016/j.cbpa.2007.04.016.
- Cattani, O., Serra, R., Isani, G., Raggi, G., Cortesi, P. & Carpena, E. (1996). Correlation Between Metallothionein and Energy Metabolism in Sea bass, *dicentrarchus labrax*, Exposed to Cadmium. *Comp. Biochem. Physiol*, 113C (2), 193-199. doi: 0742-8413(95)02087-X.
- Cavas, T., Garanko, N.N. & Arkhipchuk, V.V. (2005). Induction of micronuclei and binuclei in blood, gill and liver cells of fishes subchronically exposed to cadmium chloride and copper sulphate. *Food Chem Toxicol* 43, 569-574. doi:10.1016/j.fct.2004.12.014.
- Cengiz, M., Ozen, M.R. & Atay, R. (1999). Destruction and accumulation of copper and zinc in various organ of the common carp, *Cyprinus carpio*. *International Journal Chemistry*, 9(2), 75-84.
- Chen, Q.L., Gong, Y., Luo, Z., Zheng, J.L. & Zhu, Q.L. (2013). Differential effect of waterborne cadmium exposure on lipid metabolism in liver and muscle of yellow catfish *Pelteobagrus Fulvidraco*. *Aquatic Toxicology*, 142-143, 380-386. doi:10.1016/j.aquatox.2013.09.011.

- Chen, W.Y., Lin, C.J., Ju, Y.R., Tsai, J.W. & Liao, C.M. (2012). Assessing the effects of pulsed waterborne copper toxicity on life-stage tilapia populations. *Science of the Total Environment*, 417-418, 129-137. doi:10.1016/j.scitotenv.2011.12.043.
- Cheung, C.C.C., Zheng, G.J., Li, A.M.Y., Richardson, B.J. & Lam, P.K.S. (2001). Relationship between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *perna viridis*. *Aquat Toxicol.* 52(3-4), 189-203.
- Cicik, B. (2003). Bakır-çinko etkileşiminin sazan (*Cyprinus Carpio*)'ın karaciğer, solungaç ve kas dokularındaki metal birikimi üzerine etkileri. *Ekoloji Çevre Dergisi*, Cilt 12, Sayı 48, 32-36
- Cinier, C.C., Petit-Ramel, M., Faure, R., Garin, D. & Bouvet, Y. (1999). Kinetics of cadmium accumulation and elimination in carp *Cyprinus carpio* tissues. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 122(3), 345-352. doi:S0742-8413(98)10132-9.
- Cirillo, T., Cocchieri, R.A., Fasano, E., Lucisano, A., Tafuri, S., Ferrante, M.C., Carpane, E., Andreani, G. & Isani, G. (2012). Cadmium accumulation and antioxidant responses in *Sparus aurata* exposed to waterborne cadmium. *Environmental Contamination and Toxicology*. 62, 118-126. doi:10.1007/s00244-011-9676-9.
- Costa, P.M., Caeiro, S. & Costa, M.H. (2012). Multi-Organ histological observations on juvenile senegalese soles exposed to low concentrations of waterborne cadmium. *fish. Physiol. Biochem.* 39, 143-158. doi:10.1007/S10695-012-9686-1.
- Cui, K., Liu, Y. & Hou, L. (1987). Effects of sex heavy metals on hatching eggs and survival of larval of marine fish. *Oceanological. Limnology.* 18(2), 138 - 144.
- Çavdar, C., Sifil, A. ve Çamsarı, T., (1997). Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji ve Transplantasyon Dergisi*, 3-4, 92-95.
- Çetinkaya, O. & Karataş, M. 2010. Akuatik toksikoloji: Balık biyodenyeleri, Balık biyolojisi araştırma yöntemleri, 143-187.
- Çetinkaya, O. 2015. Su ürünleri araştırmalarında istatistiksel analizler. SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiriciliği ABD Lisans Üstü Ders Notları, Isparta.
- Çoban, B., Balkıs, N. & Aksu, A. (2009). Heavy metal levels in seawater and sediments of Zonguldak, Turkey. *Journal of the Black Sea/Mediterranean Environment*, 15(1), 23–32.
- Çoğun, H.Y.C., Yüzereroğlu, T.A. & Kargın F. (2003). Accumulation of copper and cadmium in small and large Nile tilapia *Oreochromis Niloticus* Bull. Environ. Contam. Toxicol., 71, 1265–1271. doi:10.1007/s00128-003-8523-8.



- David, M., Munaswamy, V., Halappa, R. & Marigoudar, S.R. (2008). Impact of sodium cyanide on catalase activity in the freshwater exotic carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus), *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 92, 15-18. doi:10.1016/j.pestbp.2008.03.013.
- Davies, K.J. (1995). Oxidative stress, the paradox of aerobic life. *Biochem. Soc. Symp.*, 61, 1-31.
- De La Torre, F.R., Salibian, A. & Ferrari, L. (1999). Enzyme activities as biomarkers of freshwater pollution: responses of fish branchial (Na<sup>+</sup>K)-atpase and liver transaminases. *Environ. Toxicol.*, 14, 313-319. doi:1520-4081 /99/030313-07.
- De La Torre, F.R., A. Salibian, A. & Ferrari, L. (2000). Biomarkers assessment in juvenile *cyprinus carpio* exposed to water borne cadmium. *Environmental Pollution*, 109, 277-282. doi:S0269-7491(99)00263-8.
- De Smed, H. & Blust, R. (2001). Stress responses and changes in protein metabolism in carp *Cyprinus caprio* during cadmium exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 48, 255-262. doi:0.1006/eesa.2000.2011.
- Demin, O.V., Kholodenko, B.N. & Skulachev, V.P. (1998). A model of O<sub>2</sub>-generation in the complex III of the electron transport chain. *Mol. Cell. Biochem.*, 184, 21– 33.
- Denton, G. R. W. & Burdon-Jones, C. (1986). Environmental effects on toxicity of heavy metals to two species of tropical marine fish from Northern Australia. *Chemical Ecology*, 2(3), 233-249.
- Dimitrova, M.S., Tishinova, V. & Velcheva, V. (1994). Combined effect of zinc and lead on the hepatic superoxide dismutase-catalase system in carp (*Cyprinus carpio*). *Comparative Biochemistry And Physiology*, 108, 43–46. doi:8413(93)E0037-V.
- Di Giulio, R.T., Washburn, P.C., Wenning, R.J., Winston, G.W. & Jewell, C.S. (1989). Biochemical responses in aquatic animal: a review of determinants of oxidative stress. *Environ. Toxicol. Chem.* 8, 1103–1123. doi:0730-7268189.
- Draper, H. H. & Hadley, M., (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Method Enzymol.* 180, 421-431.
- Draper, H.H., Squires, E.J., Mahmooch, H., Wu, J., Agarwal, S. & Handley, M. (1993). A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. *Free Radic Biol Med*, 15, 353–363. doi:0891-5849/93.
- Durrieu, G., Maury-Brachet, R., Girardin, M., Rochard, E. & Boudou, A., (2005). Contaminations by heavy metals (Cd, Zn, Cu, and Hg) of eight fish species in the gironde estuary (France). *Estuaries*, 28 (4), 581-591.

- El-Moselhy, K. M. (2001). Toxicity of cadmium to the Marine Fish *Mugil Seheli* and its accumulation in different tissues. *Journal Egypt Academy Society. Environmental Development*, 2(1), 17–28.
- Emad, H.A.N., Kalid, M.M. & Mohamed, A.H. (2005). Toxicity of cadmium and copper and their effect on some biochemical parameters of marine fish *Mugil seheli*. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 31(2), 60-71.
- EPA Method 3051, 1998. Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils, and Oils.
- Erçal, N., Gurer-Orhan, H. & Aykin-Burns, N. (2001). Toxic metals and oxidative stress part 1: mechanisms involved in metal induced oxidative damage. *Curr Topics Med Chem*, 1, 529–539. doi:0.2174/1568026013394831.
- Erdem, C. & Kargin, F. (1990). Farklı ortam derişimlerinde *Tilapia Nilotica* (L.)'nin doku ve organlarında bakır birikimi. *Turkish Journal of Zoology*, 14, 173-178.
- Erdem, C., Cicik, B., Karayakar, S., Karayakar, F. & Karaytuğ, S. (2005). *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822)'da kadmiyum'un solungaç, karaciğer, böbrek, dalak ve kas dokularındaki birikim ve artımı. Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 1(2), 18-26.
- Eyckmans, M., Celis, N., Horemans, N., Blust, R. & De Boeck, G. (2011). Exposure to waterborne copper reveals differences in oxidative stress response in three freshwater fish species. *Aquatic Toxicology*, 103, 112–120. doi:10.1016/j.aquatox.2011.02.010.
- Falfushynska, H., Gnatyshyna, L.L., Stoliar, O.B. & Nam, Y.K. (2011). Various responses to copper and manganese exposure of *carassius auratus gibelio* from two populations. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 154(3), 242-253. doi:10.1016/j.cbpc.2011.06.001.
- Fairbanks, V.F. & Klee, G.G. (1977). Biochemical aspects of hematology. In: Burtis CA, Ashwood ER, Eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 1703-1704.
- Ferreira, M., Caetano, M., Costa, J., Ferreira, P.P., Vale, C. & Reis-Henriques, M.A (2008). Metal accumulation and oxidative stress responses in, cultured and wild, white seabream from northwest atlantic. *Science of the Total Environment*, 407(1), 638-646. doi:10.1016/j.scitotenv.2008.07.058.
- Firat, Ö., Coğun, H.Y., Aslanyavrusu, S. & Kargin F. (2009). Antioxidant responses and metal accumulation in tissues of Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* under Zn, Cd and Zn + Cd exposures. *J. Appl. Toxicol.*, 29, 295–301. doi:10.1002/jat.1406
- Filho, D.W. (1996). Fish antioxidant defenses a comparative approach. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 29, 1735–1742. doi:0100-879X.

- Finkel, T. & Holbrook, N.J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of aging. *Nature* 408, 239–247. doi:10.1038/35041687.
- Florence, G., Serafim, A., Barreira, L. & Bebianno, M.J. (2002). Response of antioxidant systems to copper in the gills of the clam *Ruditapes decussates*. *Mar Environ Res*, 54, 413–417. doi:S0141-1136(02)00164-2
- Foyer, C.H. & Noctor, G. (2009). Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications. *Antioxid. Redox Signaling*, 11, 861–905. doi: 10.1089=ars.2008.2177.
- Fridovich, I. (1995). Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Toxicol*, 64, 97-112. doi:10.1146/annurev.bi.64.070195.000525.
- Galindo, L., Hardisson, A. & Montelongo, F.G. (1986). Correlation between lead, cadmium, copper, zinc and iron concentrations in frozen tuna fish. *Bull Environ Contam Toxicol*, 36, 595-599.
- Garcia-Santos, S., Fontainhas-Fernandes, A. & Wilson, J. M. (2006). Cadmium tolerance in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) following acute exposure: Assessment of some ionoregulatory parameters. *Environmental Toxicology*, 21(1), 33-46. doi:10.1002/tox.
- Gargiula, G., Arcamone, N., De Girolamo, P. & Andreozze, G. (1996). Histochemical study of the effects of cadmium uptake on oxidative enzymes of intermediary metabolism in kidney of goldfish (*Carassius auratus*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 113(2), 177-183. doi:0742-8413(95)02085-3.
- Giari, L., Manera, M., Simoni, E. & Dezfuli, B.S. (2007). Cellular alterations in different organs of European sea bass *Dicentrarchus labrax* (L.) exposed to cadmium. *Chemosphere* 67, 1171-1181. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.10.061.
- Gill, T.S., Tewari, H. & Pande, J. (1991). In vivo and in vitro effects of cadmium on selected enzymes in different organs of the fish *Barbus conchionius* Ham. (Rosy barb). *Comp. Biochem. Physiol.* 100C, 501-505. doi: 03064492/91.
- Gill, T.S., Bianchi, C.P. & Epple, A. (1992). Trace metal (Cu and Zn) adaptation of organ systems of the American eel *Anguilla rostrata* to external concentrations of cadmium. *Comp. Bio. Phys.* 102, 361-371. doi:10.1016/0742-8413(92)90127-S.
- Gill, T.S. & Epple, A. (1993). Stress-related changes in the hematological profile of the American eel (*Anguilla rostrata*). *Ecotoxicol Environ Safety* 25, 227-235. doi:10.1006/eesa.1993.1021.
- Glader, B.E. (2008). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and related disorders of hexose monophosphate shunt and glutathione metabolism. in: *Wintrobe's clinical hematology*. 10th Ed. Baltimore: Williams & Wilkins. P. 1176-90. doi:10.1016/002-9343(66)90035-0.

- Gonzalez-Quiros, R., Arbol, J., Garcia-Pacheco, M.M., Silva-Garcia, A.J., Naranjo J.M. & Morales-Nin, B. (2011). Life-history of the meagre *Argyrosomus regius* in the gulf of cadiz (SW iberian). *Fisheries Research*, 109(1), 140–149. doi: 10.1016/j.fishres.2011.01.031.
- Götz M.E., Kunig G., Riederer G.P. & Youdim M.B.H. (1994). Oxidative stress: free radical production in neural degeneration. *Pharm Ther*, 63, 37–122. doi:0163-7258/9.
- Gül, S., Belge-Kurutas, E., Yildiz E., Sahan A. & Doran F. (2004). Pollution correlated modifications of liver antioxidant systems and histopathology of fish (cyprinidae) living in Seyhan Dam Lake, Turkey. *Environment International*, 30, 605–609. doi: 10.1016/S0160-4120(03)00059-X.
- Gundogdu, A. (2008). Acute toxicity of zinc and copper for rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Journal of Fisheries Sciences*, 2(5), 711-720. doi:10.3153/jfscom.2008039.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J.M.C. (1989). *Free radicals in biology and medicine*. Second Ed. Clarendon Press, Oxford, UK.
- Hamed, M.A.F. (1992). *Seawater Quality Atthe Northern Part Of The Gulf Of Suez And The Nearby Area Of The Suez Canal* (masters thesis, El-Mansoura University, Faculty of Science).
- Hansen, B.H., Ramma, S., Softeland, L.R., Olsvik, P.A. & Andersen, R.A. (2006). Induction and activity of oxidative stress-related proteins during waterborne cu-exposure in brown trout (*Salmo trutta*). *Chemosphere*, 65(10), 1707-1714. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.04.088.
- Heikkila, R. E. & Cabbat, F. (1976). A sensitive assay for superoxide dismutase based on the autoxidation of 6-hydroxydopamine. *Analytical Biochemistry*, 75, 356-362.
- Hisar, O., Sönmez, A.Y., Beydemir, Ş., Aras Hisar, Ş., Yanik, T. & Cronin, T. (2009). Kinetic behaviour of glucose 6-phosphate dehydrogenase and 6-phospho gluconate dehydrogenase in different tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to non-lethal concentrations of cadmium. *Acta Vet. Brno*, 78, 179–185. doi:10.2754/avb200978010179.
- Hogstrand, C.L. & Haux, C. (1990). Metallothionein as an indicator of heavy metal exposure in two subtropical fish species. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.*, 138, 69-84. doi:0022-0981/90.
- Janero, D.R. (1990). Malondialdehyde and thiobarbituric acid reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med*, 9, 515–540. doi:0891-5849/90.
- Jarup, L. (2003). Hazards of heavy metal contamination. *Br Med Bull* 68, 167-182. doi:10.1093/bmb/ldg032.

- Javed, M., Sidra, A. & Latif F. (2016). Acute toxicity of cadmium and its bio-accumulation in the carnivorous fish species *Channa marulius*, *Mystus seenghala* and *Wallago attu*. International Journal of Agriculture and Biology doi:10.17957/Ijab/15.0221.
- Jeziarska, B. & Witeska, M. (2001). Summary of metal-induced disturbances in fish organism. in: metal toxicity to fish. Wydawnictwo Akademii Podlaskej, Siedlce, 214-243.
- Jia, X., Zhang, H. & Liu, X. (2011). Low levels of cadmium exposure induce DNA damage and oxidative stress in the liver of oujiang colored common carp *Cyprinus carpio* var. color. Fish Physiol. Biochem, 37, 97-103. doi:10.1007/s10695-010-9416-5.
- Joshi, S.N. & Prakash, S. (1990). Toxicity of zinc sulphate and copper sulphate to a hill-stream cobitid fish *Noemacheilus rupicula*. Indian Journal of Ecology.
- Juliana, D.S., Maritana, M., Halina, B.D., Izonete, C.G., Marco, A.F.R., Paulo, S.M.C., Paulo, C.M., Helena, C.S.D.A., Adalto, B. & Claudia, B.R.M. (2016). Biomarkers of waterborne copper exposure in the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. Aquatic Toxicology, 170, 31–41. doi:10.1016/j.aquatox.2015.11.012.
- Kalman, J., Riba, I., Ángel, D.V.T. & Blasco, J. (2010). Comparative toxicity of cadmium in the commercial fish Species *Sparus aurata* and *Solea senegalensis*. Ecotoxicol Environ Saf 73, 306-311. doi:10.1016/j.ecoenv.2009.10.013
- Kamunde, C., Clayton, C. & Wood, C.M. (2002). Waterborne vs. dietary copper uptake in rainbow trout and the effects of previous waterborne copper exposure. American Journal Physiology Regulatory Integrated Comparative Physiology, 283, 69-78. doi:0363-6119/02.
- Karabulut, H. & Gülay, M.Ş. (2016). Antioksidanlar. MAE Vet Fakültesi Dergisi, 1(1), 65-76. doi:5000185894.
- Kargın, F. & Erdem, C. (1991). *Cyprinus carpio*'da bakırın karaciğer, dalak, mide, bağırsak, solungaç ve kas dokularındaki birikimi. Turkish Journal of Zoology, 15, 306-314.
- Kargın, F. & Erdem, C. (1992). Bakır-çinko etkileşiminde *Tilapia nilotica* (L.)'nin karaciğer, solungaç ve kas dokularındaki metal birikimi. Turkish Journal Of Zoology, 16, 343-348.
- Kır, M., Topuz, H., Sunar, M.C. & Topuz, M. (2015). Effect of temperature on acute toxicity of nitrite to meagre, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801). Journal of the World Aquaculture Society, 46(5), 564-568. doi:10.1111/jwas.12214.
- Kır, M., Topuz, M., Sunar, M.C. & Topuz, H. (2016). Acute toxicity of ammonia in meagre (*Argyrosomus regius* Asso, 1801) at different temperatute. Aquaculture Research, 47, 3593-3598. doi:10.1111/are.12811.

- Kelly, S.A., Havrilla, C.M., Brady, T.C., Abramo, K.H. & Levin, E.D. (1998). Oxidative stress in toxicology: Established mammalian and emerging piscine model systems. *Environ Health Perspect*, 106, 375–384. doi:10.1289/ehp.98106375.
- Kırıcı, M., Turk, C., Caglayan, C., Kırıcı. & M. (2017). Toxic effects of copper sulphate pentahydrate on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation of freshwater fish capoeta umbla tissues. *Applied Ecology and Environmental Research*, 15(3), 1685-1696. doi:10.15666/aeer/1503\_16851696.
- Kim, S.G. & Kang, J.C. (2004). Effect of dietary copper exposure on accumulation, growth and hematological parameters of the juvenile rock fish, *Sebastes schlegeli*. *Marine Environment Res.*, 58(1), 65-82. doi:10.1016/j.marenvres.2003.12.004.
- Knapen, D., Bervoets, L., Verheyen, E. & Blust, R. (2004). Resistance to water pollution in natural gudgeon (*Gobio gobio*) populations may be due to genetic adaptation. *Aquatoxicol.*, 67, 155–165. doi:10.1016/j.aquatox.2003.12.001.
- Kohen, R. & Nyska, A. (2002). Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol .Pathol*, 30, 620–650. doi:10.1080/01926230290166724.
- Krishnani, K., Saheb, A.I., Kailasam, M. & Muralidhar, M. (2003). Acute toxicity of some heavy metals to *Lates calcarifer* fry with a note on its histopathological manifestations. *Journal Environmental Science and Health Part. A*. 38(4), 645–655. doi:10.1081/ESE-120016929.
- Kuroshima, R. (1992). Comparison of cadmium accumulation in tissues between carp cyprinus carpio and red sea bream pagrus major. *Nihon-Suisan-Gakkai-Shi*, 58(7), 1237-1242.
- Kuru, H.İ. (2007). Arseniğin insan ve bazı canlılarda oksidatif enzimler üzerine etkileri. (Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Kuru, M., Yerli, S., Mangit, F., Ünlü, E. & Alp, A. (2014). Fish biodiversity in inland waters of Turkey. *Journal of Academic Documents for Fisheries and Aquaculture*, 3, 93-120. doi:2148-2608.
- Lage, C.R., Nayak, A. & Kim, C.H. (2006). Arsenic ecotoxicology and innate immunity. *Integr. Comp Biol* 46: 1040-1054. doi:10.1093/icb/icl048.
- Levy, C.G., Adriana R.C.G., Rodrigo, N.O., Luiz Fernando L.F., & Rafael De Almeida M. (2009). Acute toxicity of copper and cadmium for piauçu, *Leporinus macrocephalus*, and curimatã. *Prochilodus vimboides*. *Biological Sciences*, 31(3), 313-315. doi:10.4025/actascibiolsci.v31i3.5069.

- Li, D., Katakura, M. & Sugawara, N. (1995). Improvement of acute cadmium toxicity by pretreatment with copper salt. *bull. Environ. Contam. Toxicol* 54: 878-883.
- Liang, C., Wei, H., Jinhu, L., Zhenjiang, Y. & Shuozeng, D. (2010). Toxicity of short-term copper exposure to early life stages of red sea bream *Pagrus major*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(9), 2044–2052. doi:10.1002/etc.247.
- Lio, C.M., Ju, Y.R., Chen, W.Y. & Chen, B.C. (2011). Assessing the impact of waterborne and dietborne cadmium toxicity on susceptibility risk for rainbow trout. *Science Total Environment*, 409(3), 503-513. doi:10.1016/j.scitotenv.2010.10.044.
- Liu, H., Wang, W.J. & Zhang, X.R. (2006). Effects of copper and its ethylene diamine tetraacetate complex on the antioxidant defenses of the goldfish, *Carassius auratus*. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 65, 350-354. doi:10.1016/j.ecoenv.2005.09.002.
- Livingstone, D.R. (2001). Contaminant induced active oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Mar Pollut. Bull*, 42, 656–666. doi:10.1016/S0025-326X(01)00060-1.
- Livingstone, D.R. (2003). Oxidative stress in aquatic organisms in relation to pollution and aquaculture. *Rev Med Vet.*, 154, 427–430.
- Lopes, P.A., Pinheiro, T., Santos, M.C., Mathias, M.L., Collarespereira, M.J. & Viegas-Crespo, A.M. (2001). Response of antioxidant enzymes in freshwater fish populations (*Leuciscus alburnoides* complex) to inorganic pollutants exposure. *The Science of the Total Environment*, 280: 153-163. doi:S0048-9697(01)00822-1.
- Lushchak, V., Lushchak, L.P., Mota, A.A. & Hermes-Lima, M. (2001). Oxidative stress and antioxidant defences in goldfish (*Carassius auratus*) during anoxia and reoxygenation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 280, 100–107. doi: 0363-6119/01.
- Lushchak, V.I. (2011). Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicology*, 101, 13-30. doi:10.1016/j.aquatox.2010.10.006.
- Lushchak, V.I. (2008). Oxidative stress as a component of transition metal toxicity in fish. In: Svensson, E.P. (Ed.), *Aquatic Toxicology Research Focus*. Nova Science Publishers Inc., Hauppaug, NY, USA, 1–29.
- Mahboob, S. (2013). Environmental pollution of heavy metals as a cause of oxidative stress in fish: A review. *Life Sciencejournal*, 10, 336-347. doi:1097-8135.

- Malhotra, J.D. & Kaufman, R.J. (2007). Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious cycle or a double-edged sword. *Antioxid. Redox Signaling*, 9, 2277–2293. doi:10.1089/ars.2007.1782.
- Mazon, A. F. & Fernandes, M. N. (1999). Toxicity and differential tissue accumulation of copper in the tropical freshwater fish, *Prochilodus scrofa* (Prochilodontidae) Bull. Environ. Contam. Toxicol. 63, 797-804.
- Mcanulty, S.R., Mcanulty, L.S., Nieman, D.C., Morrow, J.D., Utter, A.C., Henson, D.A., Dumke, C.L. & Vinci, D.M. (2003). Influence of carbohydrate ingestion on oxidative stress and plasma antioxidant potential following a 3 h run. *Free Radic. Res.*, 37, 835-840. doi:10.1080/1071576031000136559.
- Mckim, J.M., Christensen, G.M. & Hunt, E.P. (1970). Changes in the blood of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) after short-term long-term exposure to copper. *Canadian Journal of Fisheries and Aquaticscience*, 27, 1883–1889.
- Melgar, M.J., Perez, M., Garcia, M.A., Alonso, J. & Miguez, B. (1997). The Toxic and accumulative effects of short term exposure to cadmium in rainbow trout (*O. mykiss*). *Vet. Hum. Toxic.*, 39(2), 79-83. doi:0145-6296.
- Melissa, K.D., Amber L., Matthews Jason C. & Raine Som N. (2016). Interactive Effects of Chronic Waterborne Copper and Cadmium Exposure on Tissue-Specific Metal Accumulation and Reproduction in Fathead Minnow (*Pimephales promelas*) *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 179, 165–173. doi:10.1016/j.cbpc.2015.10.009.
- Messaoudi, I., Barhoumi, S., Said, K. & Kerken, A. (2009). Study on the sensitivity to cadmium of marine fish *Salaria basilisca* (Pisces: Blennidae). *Journal of Environmental Scien.*, 21, 1620–1624. doi:10.1016/S1001-0742(08)62464-X.
- Minghetti, M., Leaver, M.J., Carpena, E. & George, S.G. (2008). Copper transporter 1, metallothionein and glutathione reductase genes are differentially expressed in tissues of Seabream (*Sparus Aurata*) after exposure to dietary or waterborne copper. *Comp. Biochem. Physiol C Toxicolpharmacol*, 147, 450–459. doi:10.1016/j.cbpc.2008.01.014.
- Miyamoto, S., Dupos, C., Murota, K. & Terao, J. (2003). Phospholipid hydroperoxides are detoxified by phospholipase a2 and gsh peroxidase in rat gastric mucosa. *Lipids*, 28, 641-649.
- Moon, T.W. & Foster, G.P. (1995). Tissue carbohydrate metabolism, gluconeogenesis and hormonal and environmental influences. In: Hochachka, P.W., Mommsen, T.P. (Eds.), *Metabolic Biochemistry*. Elsevier, Amsterdam, 65-100.
- Morales, A.E., Pèrez-Jiménez, A., Hidalgo, M.C., Abellán, E. & Gabriel C.G. (2004). Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in *Dentex dentex* liver. *Comparative Biochemistry and Physiology C*, 139(1-3), 153-161. doi:10.1016/j.cca.2004.10.008.



- Mruk, D.D., Silvestrini, B., Meng-Yun, M.O. & Cheng, C.Y. (2002). Antioxidant superoxide dismutase - A review: Its function, regulation in the testis, and role in male fertility. *Contraception*, 65(4), 305-311. doi:10.1016/S0010-7824(01)00320-1.
- Nayak, A.S., Lage, C.R. & Kim, C.H. (2007). Effects of low concentrations of arsenic on the innate immune system of the zebrafish (*Danio rerio*). *Toxicol Science*, 98, 118-124. doi:10.1093/toxsci/kfm072.
- Nogueira, C.W., Quinhones, E.B., Jung, E.A.C., Zeni, G. & Rocha, J.B.T. (2003). Anti-inflammatory and antinociceptive activity of biphenyl diselenide. *Inflamm Res*, 52, 56–63. doi:1023-3830/03/020056-08.
- Nordberg, J. & Arner, S.J. (2001). Reactive oxygen species, antioxidant, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med.*, 31(11), 1287-1312. doi:10.1016/S0891-5849(01)00724-9.
- Oliva, M., Carmen, M.D., Perez, G.E. & De Canales, M.L.G. (2007). Evaluation of acute copper toxicity during early life stages of gilthead seabream, *Sparus aurata*. *Toxic Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 42(4), doi:10.1080/10934520701189760.
- Orbea, A., Fahimi, H.D. & Cajaraville M.P. (2000). Immunolocalization of four antioxidant enzymes in digestive glands of molluscs and crustaceans and fish liver. *Histochem Cell Biol.* 114(5), 393-404. doi:10.1007/s004180000207.
- Ozmen, I., Bayir, A., Cengiz, M., Sirkecioglu, A.N., Atamanalp, M., 2004. Effects of water reuse system on antioxidant enzymes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* w, 1792). *Veterin Med. Czech*, 49, 373–378. doi:10.17221/5726-VETMED.
- Pagenkopf, G.K. (1983). Gill surface interaction model for trace-metal toxicity to fishes: Role of complexation, pH and water hardness. *Environ. Sci. Technol.*, 7 (6), 342-347. doi: 0013-936X/83/0917-0342.
- Pandey, S., Parvez, S., Ansari, R.A., Ali, M., Kaur, M., Hayat, F., Ahmad, F. & Raisuddin, S. (2008). Effects of exposure to multiple trace metals on biochemical, histological and ultrastructural features of gills of a freshwater fish, *Channa Punctata* Bloch. *Chemico-Biological Interactions*, 174(3), 183-192. doi:10.1016/j.cbi.2008.05.014.
- Papa, S. & Skulachev, V.P. (1997). Reactive oxygen species, mitochondria, apoptosis and aging. *Mol. Cell. Biochem.*, 174, 305–319.
- Paruruckumani, P.S., Maharajan, A., Seema, P. & Ganapiriya, V. (2015). Acute toxicity bioassay of copper on the juveniles of asian sea bass, *lates calcarifer* (Bloch). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 3(2), 337-342. doi: 2347-5129.

- Pierron, F., Baudrimont, M., Bossy, A., Bourdineaud, J.P., Brethes, D., Elie, P. & Massabuau, J.C. (2007). Impairment of lipid storage by cadmium in the European eel (*Anguilla anguilla*). *Aquat. Toxicol.* 81, 304–311. doi:10.1016/j.aquatox.2006.12.014.
- Qu, B., Wang, X., Wang, Z., Wei, Z. & Wang, L. (2014). Metal accumulation and antioxidant defenses in the freshwater fish *Carassius auratus* in response to single and combined exposure to cadmium and hydroxylated multi-walled carbon nanotubes. *Journal of Hazardous Materials*, 275, 89–98. doi:10.1016/j.jhazmat.2014.04.051.
- Radi, A.A. & Matkovic, B. (1988). Effect of metal ions on the antioxidant enzyme activities, protein contents and lipid peroxidation of carp tissues. *Comp Biochem Physiol C*, 90(1), 69–72. doi:0306~4492/88.
- Rani, S.P.A. (2003). Cadmium-induced antioxidant defence mechanism in freshwater teleost *Oreochromis mossambicus* (Tilapia). *Ecotoxicol Environ Saf.* 56, 218–221. doi:10.1016/S0147-6513(03)00028-9.
- Ransberry, V.E., Andrea J., Morash, A.J., Blewett, T.A., Wood, C.M. & McClelland, G.B. (2015). Oxidative stress and metabolic responses to copper in freshwater and seawater-acclimated killifish, *Fundulus heteroclitus*. *Aquatic Toxicology*, 161, 242–252. doi:10.1016/j.aquatox.2015.02.013.
- Regoli, F. & Principato, G. (1995). Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and laboratory conditions: implications for the use of biochemical biomarkers. *Aquatic Toxicology*, 31 (2), 143–164. doi: 0166-445X/95.
- Regoli, F., Frenzilli, G., Bochetti, R., Annarumma, F., Scarcelli, V., Fattorini, D. & Nigro, N. (2004). Time-course variations of oxyradical metabolism, dna integrity and lysosomal stability in mussels, *Mytilus galloprovincialis*, during a field translocation experiment. *Aquat Toxicology*, 68, 167–178. doi:10.1016/j.aquatox.2004.03.011.
- Reitman, S. & Frankel, S. (1957). A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Amer. J. Clin. Pathol.*, 28: 56–63. doi:10.1093/ajcp/28.1.56.
- Roméo, M., Bennani, N., Gnassia-Barelli, M., Lafaurie, M. & Girard, J.P. (2000). Cadmium and copper display different responses towards oxidative stress in the kidney of the sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquatic Toxicology*, 48(2–3), 185–194. doi:S0166-445X(99)00039-9.
- Saad, T.T. (2013). Some study on heavy metal and bacterial infection relationship in some cultured marine fish. *Journal of the Arabian Aquaculture Society*, 8(1), 143–161.

- Sampaio, F.G., Bojink, C., Oba, E.T., Bichara dos Santos, L.R., Kalinin, A.L. & Rantin, F.T. (2008). Antioxidant defenses and biochemical changes in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) in response to single and combined copper and hypoxia exposure. *Comp. Biochem. Physiol. C*, 147, 43-51. doi:10.1016/j.cbpc.2007.07.009.
- Sastry, K.V. & Shukla, V. (1994). Acute and chronic toxic effects of cadmium on some haematological, biochemical and enzymological parameters in the freshwater teleost fish *Channa punctatus*. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, 22, 171-176. doi:0323-4320/94/0408-0171.
- Scott, W.A. (1975). Glucose-6-phosphate dehydrogenase from *Neurospora crassa*. *Methods Enzymology*, 41, 177-182.
- Serra, R., Isani, G., Cattani, O. & Carpena, E. (1996). Trace elements variations in *Sparus aurata* during the growing season. *Bioltrace Elem Res.*, 51, 107-116.
- Sevcikova, M., Modra, H., Slaninova, A. & Svobodova, Z. (2011). Metals as a cause of oxidative stress in fish: A review. *Veterinari Medicina*, 56(11), 537-546.
- Shi, H.H., Sui, Y.X., Wang, X.R., Luo, Y. & Ji, L.L. (2005). Hydroxylradical production and oxidative damage induced by cadmium and naphthalene in liver of *Carassius auratus*. *Comp. Biochem. Physiol. C* 140, 115-121. doi:10.1016/j.cca.2005.01.009.
- Sidoumou, Z., Gnassia-Barelli, M., Siau, Y., Morton, V. & Romeo, M. (2005). Distribution and concentrations of trace metals in tissues of different fish species from the Atlantic coast of Western Africa. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 74, 988-995. doi:10.1007/s00128-005-0677-0.
- Shreve, D.S. & Levy, H.R. (1977). The molecular weight of human glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Biochem Biophys Res Com*, 78, 1369-75.
- Shuhaimi Othman, M., Nadzifah, Y. & Andahmad, A.K. (2010). Toxicity of copper and cadmium to freshwater fishes. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 4(5), 319-321. doi:0000000091950263.
- Shukla, V., Dhankhar, M., Prakash, J. & Sastry, K.V. (2007). Bioaccumulation of Zn, Cu and Cd in *Channa punctatus*. *Journal of Environmental Biology*, 28(2), 395-397. doi:5914964.
- SM 3120B, 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19th Edition, Washington.
- SM 4500B, 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19th Edition, Washington.
- SM 4500F, 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19th Edition, Washington.

- Soares, S.S., Martins, H., Gutieres-Merino, C. & Aureliano, M. (2008). Vanadium and cadmium in vitro effects in teleost cardiac muscle: Metal accumulation and oxidative stress markers. *Comp Biochemical Physiology C*, 147, 168–178. doi:10.1016/j.cbpc.2007.09.003.
- Sohal, R.S., Mockett, R.J. & Orr, W.C. (2002). Mechanisms of aging: An appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radicalsbiol. Med.* 33, 575–586. doi:S0891-5849(02)00886-9.
- Soud,G.,Souayed, N., Fatmayaktiti, F. & Maaroufi, M. (2013). Effect of acute cadmium exposure on metal accumulation and oxidative stress biomarkers of *sparus aurata*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 89, 1-7. doi:10.1016/j.ecoenv.2012.12.015.
- Sparague, J.B. (1969). Measurements of pollutant toxicity to fish. I. Bioassay Methods For Acute Toxicity. *Wat. Res.* 3, 793-821.
- Straus, D.L. (2006). Acute toxicity to channel catfish, *Ictalurus punctatus* and Sunshine bass, *Morone chrysopsxm. saxatilis*. *Journal of Applied Aquaculture*, 18(1), 88-89.
- Stohs, S.J. & Bagchi, D. (1995). Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radic. Biol. Med.* 18, 321–336. doi:0891-5849/95.
- Stohs, S.J., Bagchi, D., Hassoun, E. & Bagshi, M. (2000). Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions. *J Environ Pathol Oncol*, 19, 201-213. doi:10.1615/JEnvironPatholToxicolOncol.v20.i2.10.
- Suren, E.,Yılmaz, S., Turkoglu, M. & Kaia, S. (2007). Concentrations of cadmium and lead heavy metals in dardanelles seawater. *Environmonitassess.*, 125, 91–98. doi:10.1007/s10661-006-9242-5.
- Suresh, A., Sivaramakrishna, B. & Radhakrishnaiah, K. (1993). Patterns of cadmium accumulation in the organs of fry and fingerlings of fresh water fish *Cyprinus carpio* following cadmium exposure. *Chemosphere*, 26, 945–953. doi:0045-6535/93.
- Tarhan, L. & Tüzmen, M.N. (2000). Some properties of cu, zn-superoxide dismutase from sheep erythrocyte. *Turkish Journal of Chemistry*, 24, 109-116.
- Tao, S., Wen, Y., Long, A., Dawson, R., Cao, J. & Xu, F. (2001). Simulation of acid-base condition and copper speciation in fish gill micro environment. *Computational Chemistry*, 25, 215–222. doi:S0097-8485(00)00083-8.
- Thophon, S., Kruatrachue, M., Upatham, E.S., Pokethitiyook, P., Sahaphong, S. & Jaritkhuan, S. (2003). Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. *Environmental Pollution*, 121, 307–320. doi:S0269-7491(02)00270-1.

- Trivedi, M.H., Sangai, N.P. & Renuka, A. (2012). Assessment of toxicity of copper sulphate pentahydrate on oxidative stress indicators on liver of gold fish (*Carassius auratus*) bulletin of environment. Pharmacology and Life Sciences, 1(9), 52-57, doi:2277-1808.
- Tokşen E., Gamsız K. & Nemli E. (2007). Yetiştiriciliği Yapılan sarıağz (*Argyrosomus regius*, Asso,1801) balıklarında görülen benedenia sciaena van beneden, 1856 (Monogenea: capsalidae) enfestasyonu. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 31 (1), 75-78. doi:1300-1590.
- Turan, C. (2007). Türkiye Kemikli Deniz Balıkları Atlası ve Sistematiği. Nobel Yayınları, 547.
- Türkmen, A. & Aras, S. (2011). İskenderun Körfezi'nde deniz suyu ve sedimentte oluşan ağır metal birikiminin incelenmesi. Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi / The Black Sea Journal Of Science, 1(3), 1-23. doi:1309-4726.
- Varo, I., Nunes, B., Amat, F. & Torreblanca, A. (2007). Effect of sublethal concentrations of copper sulphate on seabream *Sparus aurata* fingerlings. Aquatic Living Resources, 20(3), 263-270. doi:10.1051/alr:2007039.
- Vaglio, A. & Landriscina, C. (1999). Changes in liver enzyme activity in the teleost *Sparus aurata* in response to cadmium intoxication. Ecotoxicology and Environmental Safety, 43, 111–116. doi:0147-6513/99.
- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M. & Scoullou, M. (2006). Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. Ecotoxicology and Environmental Safety, 64, 178–189. doi:10.1016/j.ecoenv.2005.03.013.
- Valko, M., Morris, H. & Cronin, M.T. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. Current Medical Chemistry, 12, 1161-1208. doi:0929-8673/05.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M. & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int. J. Biochem. Cell Biol., 39: 44–84. doi:10.1016/j.biocel.2006.07.001.
- Velma, V., Vutukuru, S. & Tchounwou, P.B. (2009). Ecotoxicology of hexavalent chromium in freshwater fish: A critical review. Rev Environ Health 24(2), 129–145.
- Verboost, P.M., Flik, G., Lock, R.A.C. & Wendelaar Bonga, S.E. (1987). Cadmium inhibition of Ca<sup>2+</sup> uptake in rainbow trout gills. Am J Physiol Regul Integ Comp Physiol 253, 216-221. doi:0363-6119/87.
- Vetillard, A. & Bailhache, T. (2005). Cadmium: An endocrine disrupter that affects gene expression in the liver and brain of juvenile rainbow trout. Biol Repr, 72, 119-126. doi:10.1095/biolreprod.104.029520.

- Vieira, L.R., Gravato, C., Soares, A.M.V.M., Morgado, F. & Guilhermino L. (2009). Acute effects of copper and mercury on the estuarine fish *Pomatoschistus microps*: Linking biomarkers to behaviour. *Chemosphere*, 76, 1416–1427. doi:10.1016/j.chemosphere.2009.06.005.
- Viyavel, K., Gopalakrishnan, S., Thilagam, H. & Balasubramanian, M.P. (2006). Dietary ascorbic acid and alpha-tocopherol mitigates oxidative stress induced by copper in the thornfish *Terapon jarbua*. *Sci Total Environ.*, 372 (1), 157-163. doi:10.1016/j.scitotenv.2006.09.027.
- Vineeta, S., Monika, D., Jai, P. & Sastry, K.V. (2007). Bioaccumulation of Zn, Cu and Cd in *Channa punctatus*. *Journal of Environmental Biology*, 2, 395-397.
- Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullou, M.J. & Valavanidis, A. (2007). Integrated use of biomarkers (superoxide dismutase, catalase and lipid peroxidation) in mussels *Mytilus galloprovincialis* for assessing heavy metals' pollution in coastal areas from the Saronikos Gulf of Greece. *Marine Pollution Bulletin* 54, 1361–1371. doi:10.1016/j.marpolbul.2007.05.018.
- Vutukuru, S.S., Chintada, S., Madhavi, K.R., Venkateswara Rao, J. & Anjaneyulu, Y. (2006). Acute effects of copper on superoxide dismutase, catalase and lipid peroxidation in the freshwater teleost fish. *Esomus Danricus*. *Fish Physiol. Biochem.* 32, 221–229. doi:10.1007/s10695-006-9004-x.
- Wong, P.P.K., Chu, L.M. & Wang, C.K. (1999). Study of toxicity and bioaccumulation of copper in the silver sea bream *Sparus sarba*. *Environment International*, 25(4), 417-422. doi:10.1016/S0160-4120(99)00000-0.
- Wu, Y., Zhao, H. & Hou, L. (1990). Effects of heavy metals on embryos and larvae of flat fish *Paralichthys olivaceus*. *Oceanology Limnology. Sin./Haiyang-Yu-Huzhao*. 21(4), 386 - 392.
- Wu, S.M., Shih, M.J. & Ho, Y.C. (2007). Toxicological stress response and cadmium distribution in hybrid tilapia (*Oreochromis* Sp.) upon cadmium exposure. *Comp. Biochem. Physiol. C* 145, 218–226. doi:10.1016/j.cbpc.2006.12.003.
- Yang, H.N. & Chen, H.C. (1996). The influence of temperature on the acute toxicity and sublethal effects of copper, chromium and zinc to Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Acta Zool. Taiwanica*. 7, 29-38. doi:10.1016/S0160-4120(99)00000-0.
- Yeşilbudak, B. & Erdem, C. (2014). Cadmium accumulation in gill, liver, kidney and muscle tissues of common carp, *Cyprinus carpio*, and Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Bull. Environ Contam Toxicol*, 92, 546–550. doi:10.1007/s00128-014-1228-3.
- Yonar, M.E., İspir, U., Yonar S. M. & Kirici, M. (2016). Effect of copper sulphate on the antioxidant parameters in the rainbow trout fry, *Oncorhynchus mykiss*. *Cellular and Molecular Biology* 62, 55-58. doi:10.14715/cmb/2016.62.6.10.

- Young, I.S. & Woodside, J.V. (2001). Antioxidant in health and disease. *J Clint Pathol.* 54(3), 176-186. doi:10.4149/BLL\_2014\_116.
- Yüzereroğlu, T.A. (2011). *Oreochromis niloticus*'da bakır, kadmiyum ve bakır-kadmiyum etkileşiminde metallerin doku ve organlarda birikimi, eliminasyonu ve antioksidant enzim aktivitelerine etkileri. (Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Zahedi, S., Mehrpoosh, M., Vaezzade, H., Dagesaracki, M. & Hosseini, S.M. (2012). LC 50 determination and copper and cadmium accumulation in the gills of kutum (*Rutilus frisii kutum*) fingerlings. terrestrial and aquatic. *Environmental Toxicology*, 6(2), 71-76.
- Zheng, J.L., Yuan, S.S., Wu, C.W., & Lu, Z.M. (2016a). Acute exposure to waterborne cadmium induced oxidative stress and immunotoxicity in the brain, ovary and liver of zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology*, 180, 36-44. doi:10.1016/j.aquatox.2016.06.001.
- Zheng, J.L., Yuan, S.S., Wu, C.W. & Li, W.Y. (2016b). Chronic waterborne zinc and cadmium exposures induced different responses towards oxidative stress in the liver of zebra fish. *Aquatic Toxicology*, 177, 261-268. doi:10.1016/j.aquatox.2016.09.012.
- Zikic, R.V., Stajn, A.S., Pavlovic, S.Z., Ognjanovic, B.I. & Saicic, Z.S. (2001). Activities of superoxide dismutase and catalase in erythrocytes and plasma transaminases of goldfish (*Carassius auratus gibelio* bloch.) exposed to cadmium. *Physiol Res*, 50, 105-111. doi:0862-8408.
- Zirong, X. & Shijun, B. (2007). Effects of waterborne Cd exposure on glutathione metabolism in nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) liver. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 67, 89-94. doi:10.1016/j.ecoenv.2006.04.006.
- Zyadah, M.A. & Abdel Baky T.E. (2000). Toxicity and bioaccumulation of copper, zinc, and cadmium in some aquatic organisms bull. *Environ. Contam. Toxicol.*, 64, 740-747. doi:10.1007/s001280000066.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Faruk PAK  
Doğum Yeri ve Yılı : Rize, 1979  
Medeni Hali : Evli  
Yabancı Dili : İngilizce  
E-posta : pak.faruk@gmail.com



### Eğitim Durumu

Lise : Rize İmam Hatip Lisesi, 1996  
Lisans : Atatürk Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fak., Kimya Bölümü, 2002  
Y. Lisans : Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2005

### Mesleki Deneyim

Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü 2005-2008  
Akdeniz Su Ürünleri Arş. Ürt. ve Eğt. Enst. 2008-.....(halen)

### Yayınlar

- Pak, F., Ekinci, D., Tümer, F. & Demir, Ü. (2007). A Mechanistic and characteristic investigation of electrooxidation of 2-amino-3-cyano-4-methylthiophene. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 208, 2367-2374. doi:10.1002/macp.200700276.
- Pak, F., Meral, K., Altundaş, R. & Ekinci, D. (2011). Self-assembled monolayers of fluorene- and nitrofluorene-terminated thiols on polycrystalline gold electrode: electrochemical and optical properties. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 654, 20-28. doi:10.1016/j.jelechem.2011.01.041.
- Turhan, F., Pak, F., Yeşildağ, A., Kudaş, Z. & Ekinci, D. (2012). Electrochemical synthesis and characterization of poly(9-benzylfluorene). *Polym. Bull.*, 68, 1677-1687. doi:10.1007/s00289-011-0667-9.
- Emre, Y., Uysal, K., Pak, F., Emre, N. & Kavasoglu, M. (2014). Seasonal and sexual variations of fatty acid composition in filet of *Capoeta erhani*. *International Journal of Aquatic Biology*, 2(6), 313-318. doi:10.22034/ijab.v2i6.127.



- Sevgili, H., Kurtoğlu, A., Oikawa, M., Öztürk, E., Dedeğali, N., Emre, N. & Pak, F. (2014). High dietary lipids elevate carbon loss without sparing protein in adequate protein-fed juvenile turbot (*Psettamaxima*). *Aquacult Int.*, 22, 797-810. doi:10.1007/s10499-013-9708-8.
- Kanyılmaz, M., Koçer, M.A.T., Sevgili, H., Pak, F. & Aydın, I. (2014). Use of natural zeolite for ammonia removal during simulated transport of live juvenile sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 66, 1027-1032.
- Emre Y., Uysal K., Emre N., Pak F., Oruç H. & Yetek İ. (2015). Seasonal variations of fatty acid profiles in muscle of *Capoeta angorae*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 15(1), 103-109. Doi:10.4194/1303-2712-v15\_1\_11.
- Sevgili, H., Sezen, S., Yılayaz, A., Aktaş, O., Pak, F., Aasen, I.M., Reitan, K.I., Sandmann, M., Rohn, S., Turan, G., Kanyılmaz, M. (2019). Apparent nutrient and fatty acid digestibilities of microbial raw materials for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with comparison to conventional ingredients. *Algal Research*, 42. doi:10.1016/j.algal.2019.101592.
- Emre N., Uysal K., Emre Y., Yetek İ. & Pak F. (2017). Seasonal variations of  $\omega$ 3 polyunsaturated fatty acids in muscle of *Capoeta caelestis*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 16(1), 50-58.
- Koçer, M.A.T., Pak F., Aktaş Ö., Oruç, H., Uysal, R., (2018). Rotary Drum Filter Effectiveness in Suspended Solids Removal from Trout Farm Discharges - A Case Report *Aquaculture Studies* 18(5), 51-56.
- Sevgili, H., Sezen, S., Kanyılmaz, M., Aktaş, Ö. & Pak, F. (2019). Dietary protein requirements of zebrafish (*Dania rerio*). *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 5(1), 34-40.
- Emre N., Uysal K., Kavasoglu M., Emre Y., Yalim B. & Pak F. (2019). Seasonal variations of the fatty acid profiles in the edible portions of two freshwater fish species (*Pseudophoxinus fahrettini* and *Capoeta mauricii*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, doi:10.22092/ijfs.2019.119242.
- Yalim, F., B., Gülle, İ., Pak, F., Aktaş, Ö., Uysal, R. & Bayoğlu, M. (2014). *Changes in The Trophic State of Karacaören I Dam Lake (TURKEY)*. *International Symposium on Fisheries and Aquatic Sciences*, September 25-27, 2014 Trabzon.
- Pak, F., Özen, M. & R., Aktaş, Ö. (2016). *Acute Toxicity on Fish Meagre (Argyrosomus regius, Asso, 1801) of Copper (Cu<sup>+2</sup>) (Turkey)*. *International Symposium on Fisheries and Aquatic Sciences*, November 3-5, Antalya.
- Pak, F., Aktaş, Ö. & Uzun, S. (2016). *Acute Nitrite Toxicity in Barbus conchoniuis (Hamilton, 1822) and Its Compensation By Chloride (Turkey)*. *International Symposium on Fisheries and Aquatic Sciences*, November 3-5, Antalya.

- Sevgili H., Kurtoğlu, A., Oikawa, M., Etrekin, H., eliköz, B., Aktaş, Ö., Pak, F. & Mert, F. (2016). *Effects of Dietary Salt Supplementation on Growth Performance and Body Nutrient Composition of Turbot (Scophthalmus maximus) in Brackish Water (Turkey)*. International Symposium on Fisheries and Aquatic Sciences, November 3-5, Antalya.
- Bulut, C., Dalkıran, N., Akçimen, U., Erbatur, İ., Pak, F. & ınar, Ő. (2016). *Phytoplankton of Iznik Lake and Their Seasonal Variations (Turkey)*. International Symposium on Fisheries and Aquatic Sciences, November 3-5, Antalya.
- Bulut, C., Uysal, K., Yaman, M., Emre, Y., Akçimen, U., ınar, Ő., Erbatur, İ., Pak, F. & Aktaş, Ö. (2016). *Investigation of Some Heavy Metal Levels in Water Samples of Iznik Lake (Turkey)*. International Symposium on Fisheries and Aquatic Sciences, November 3-5, Antalya.
- Pak, F., Özen, M.R., Aktaş Ö. & Emre Y. (2017). *Acute Toxicity on Fish Meager (Argyrosomus regius, Asso, 1801) of Cadmium (Cd<sup>2+</sup>) (Turkey)*. International Symposium on Limnology and Freshwater Fisheries, October 4-6, Isparta.
- Yalım, F.B., Gülle, İ., Pak, F., Aktaş, Ö., Cilbiz, M., Emre, Y., ınar, Ő., Uysal, R. & Oruç, H. (2017). *Determination of Some Heavy Metals in Four Fish Species from Karacaören I Dam Lake, (Turkey)*. International Symposium on Limnology and Freshwater Fisheries, October 4-6, Isparta.
- Bulut C., Uysal K., Savaşer S., Pak F., Aktaş Ö. & ınar Ő. (2017). *Investigation of Some Metal Levels in Water and Sediment Samples of Beysehir Lake (Turkey)*. International Symposium on Limnology and Freshwater Fisheries, October 4-6, Isparta.
- Sevgili, H., Sezen, S., Kanyılmaz, M., Aktaş Ö. & Pak, F. (2017). *Dietary protein requirements of zebrafish (Dania rerio)(Turkey)*. International Symposium on Limnology and Freshwater Fisheries, October 4-6, Isparta.
- Emre, Y., Kaymak, N., Akın, Ő., Emre, N., Yalım, F.B., Aktaş, Ö., Pak, F. & Uysal, R. (2018). *Stable Isotope Analyses to Elucidate Trophic Ecology of Non-Native Fish, Gambusia affinis in the Beymelek Lagoon (Antalya, Turkey) (UKRAYNA)*. The 4<sup>th</sup> International Symposium on Euro Asian Biodiversity. July 03-06, Kiev, 316.
- Öztürk Ő, N., Güngör, A., Toslak, C., Oruç, H., Yalım, F.B., Pak, F. & Aktaş, Ö. (2018). *An assessment on use of fish wastes: Biogas (Turkey)*. International Conference on Technology and Science (Techno-Science 2018), December 13-15, Antalya.
- Oruç, H., Güngör, A., Öztürk Ő, N., Yalım, F. B., Pak, F., Aktaş, Ö. & Toslak, C. (2018). *Balık Dip amuru ve Biyogaz (Turkey)*. International Conference on Technology and Science (Techno-Science 2018), December 13-15, Antalya.

- Sevgili, H., Sezen, S., Yılayaz, A., Aktaş, Ö., Pak, F., Aasen, I., M., Reitan, K., I., Sandmann, M., Chauton, M., S., Wang, X., Turan, G. & Kanyılmaz, M. (2018). *Apparent Digestibility of Nutrients of Some Microbial Raw Materials and Selected Ingredients for Rainbow Trout, Oncorhynchus mykiss (Turkey)*. International Symposium on Fisheries and Aquatic Sciences, November 21-23, Ankara.
- Bulut, C., Fidan, A., Savaşer, S., Pazar, M., Mamak, A., Çınar, Ş., Emre, E., Pak, F. & Aktaş, Ö. (2018). *Preliminary Findings in Adıgüzel Dam Lake Water Quality: Assessment of In-Situ Measurements (Turkey)*. International Symposium on Fisheries and Aquatic Sciences, November 21-23, Ankara.
- Koçer, M.A.T., Uysal, R., Yılayaz, A., Pak, F., Yuncer, Ö.A. & Muhammedoğlu, A. (2009). *Eşen Çayında (Fethiye, Muğla) Azot, Fosfor, Formlarının Değişimi, Üzerine Bir Değerlendirme (Türkiye)*. XV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, Rize.
- Kanyılmaz, M., Koçer, M.A.T., Sevgili, H., Pak, F. & Aydın, İ. (2013). *Levrek (Dicentrarchus labrax) Yavrularının Simule Edilmiş Canlı Taşınması Esnasında Zeolitin Amonyak Giderimine Etkisi (Türkiye)*. 17. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, İstanbul.
- Emre, Y., Uysal K., Pak, F., Emre, N. & Kavasoglu, M. (2014). *Capoeta erhani'nin Kas Dokusu Toplam Lipid, Toplam Protein ve Yağ Asidi Bileşiminin Mevsimsel Değişimi (Türkiye)*. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran, Eskişehir.
- Emre, Y., Uysal, K., Emre, N., F., Oruç, H. & Yetek, İ. (2014). *Endemik Balık Türlerimizden Capoeta angorae'nin Kas Dokusundaki Omega 3 Yağ Asidi Oranlarının Mevsimsel Değişimi (Türkiye)*. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran, Eskişehir.
- Emre, Y., Uysal, K., Pak, F., Emre, N. & Kavasoglu, M. (2014). *Capoeta mauricii'nin Yağ Asidi Bileşimindeki Mevsimsel Değişimlerin Araştırılması (Türkiye)*. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran, Eskişehir.
- Koçer, M.A.T., Pak, F., Aktaş, Ö., Oruç, H. & Uysal, R. (2014). *Eşen Çayı Havzasındaki Bazı Alabalık Yetiştiricilik Tesislerinde Kullanılan Tambur Filtre Sistemlerinin Deşarj Sularını Arıtma Etkinliği (Türkiye)*. Doğu Anadolu Bölgesi 5. Su Ürünleri Sempozyumu, 31 Mayıs-2 Haziran, Elazığ.
- Gülle, İ., Yalım, F., B., Kebapçı, Ü., Bayoğlu, M., Aktaş, Ö., Uysal, R., Pak, F. & Oruç, H. (2014). *İstilacı Tatlısu Medüzu Craspedacusta sowerbii Lankester, 1880 (Cnidaria: Limnomedusae) İçin Yeni Bir Lokalite: Karacaören I Baraj Gölü (Türkiye)*. Doğu Anadolu Bölgesi 5. Su Ürünleri Sempozyumu, 31 Mayıs-2 Haziran, Elazığ.

Bulut, C., Kubilay, A., Pak, F., Aktaş, Ö., Uçgun, K., Akçimen U. & Çınar, Ş. (2015). *Eğirdir Gölü Sudak Balıklarının (Sander lucioperca, Linnaeus 1758) Solungaç, Kas ve Karaciğer Dokularındaki Bazı Ağır Metal Düzeylerinin Karşılaştırılması (Türkiye)*. II. Balıklandırma ve Rezervuar Yönetimi Sempozyumu, 20-22 Mayıs, Isparta.

Bulut, C., Fidan, A., Pazar, M., Savaşer, S., Mamak, A., Özdil, E., K., Pak, F., Aktaş, Ö., Koçer, M.A.T., Küçükler, H. & Akçimen, U. (2018). *Hamam Çayı (Uşak) Su Kalitesinin Son Durumu (Türkiye)*. VIII. Ulusal Limnoloji Sempozyumu, 27-29 Ağustos, Sakarya.

Bulut, C., Pazar, M., Fidan, A., Savaşer, S., Mamak, A., Özdil, E., K., Pak, F., Aktaş, Ö., Bilgili, İ., Emre, B. & Çınar, Ç. (2018). *Banaz Çayı (Uşak) Su Kalitesinin Son Durumu (Türkiye)*. VIII. Ulusal Limnoloji Sempozyumu, 27-29 Ağustos, Sakarya.

