

**T.C.**  
**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ÇILDIR GÖLÜ'NDE YAŞAYAN *Cyprinus carpio* ( L., 1758 )**  
**BİREYLERİNİN SERUM PROTEİNLERİ ÜZERİNE BAKIR SÜLFAT**  
**(CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O)' IN ETKİSİNİN ELEKTROFORETİK YÖNDEN**  
**İNCELENMESİ**

**Dicle TANRIKULU**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Danışman**  
**Prof. Dr. Arif BAYSAL**

**2008**

**KARS**

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Dicle TANRIKULU' nun Prof. Dr. Arif BAYSAL' ın danışmanlığında yüksek lisans tezi olarak hazırladığı “Çıldır gölünde yaşayan *Cyprinus carpio* (L.,1758) bireylerinin serum proteinleri üzerine bakır sülfat ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )' ın etkisinin elektroforetik yönden incelenmesi” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy birliği ile kabul edilmiştir.

09/06/2008

	Adı Soyadı	İmza
Başkan	: Prof.Dr. Arif BAYSAL	.....
Üye	:Yrd.Doç.Dr. Muhittin YILMAZ	.....
Üye	:Yrd.Doç.Dr. Emine ATAKİŞİ	.....

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun ..../..../2008. gün ve ...../..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Vahit ALIŞOĞLU  
Enstitü Müdürü V.

## ÖNSÖZ

Bu çalışma, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Çalışmada; Çıldır Gölünde yaşayan *Cyprinus carpio* (L., 1758) bireylerinin serum proteinleri üzerine bakır sülfat ( $\text{CuSO}_4$ )'ın etkisi elektroforetik yönden incelenmiştir.

Tez konumun seçiminde, tezimin hazırlanmasında ve sonuçlandırılmasında yol gösterici olan, yoğun çalışmalarından bana zaman ayırarak engin tecrübe ve birikimlerinden yararlanma fırsatı veren, öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyduğum değerli bilim insanı ve yönetici danışman hocam Sayın Prof. Dr. Arif BAYSAL' a ve laboratuvar çalışmalarımın yürütülmesinde ve sonuçlandırılmasında yakın ilgisini, destek ve katkılarını esirgemeyen değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Muhittin YILMAZ' a da teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Kars – 2008

Dicle TANRIKULU

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No

<b>ÖZET</b>	IV
<b>ABSTRACT</b>	V
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b>	VI
<b>RESİMLER DİZİNİ</b>	VIII
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b>	IX
<b>1.GİRİŞ</b>	1
<b>2.GENEL BİLGİLER</b>	3
2.1 Ağır metaller	3
2.2 Bakır Sülfat	4
2.2.1 Bakır Metabolizması	5
2.2.2 Bakır Toksisitesi	5
2.3 <i>Cyprinus carpio</i> (L., 1758)' nın Sistematikteki Yer	6
2.3.1 Familya ve Cins Özellikleri	6
2.3.2 Tür Özellikleri	8
2.4 Çıldır Gölü' nün Özellikleri	9

<b>3. MATERYAL ve YÖNTEMLER</b>	11
3.1 Örneklerin Toplanması ve Muhafaza Edilmesi	11
3.2 Balıklarda Kan Alma Yöntemleri	11
3.2.1 Kalpten Kan Alınması	11
3.2.2 Kuyruktan Kan Alınması	11
3.3 Total Protein Tayini	13
3.4 Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforez (SDS-PAGE)	
Solüsyonlarının Hazırlanması	13
3.4.1 % 30'luk Akrilamid Solüsyonu	14
3.4.2 Stoklama Jel Tamponu (0.5 M Tris-HCl, pH 6.8)	14
3.4.3 Ayırma Jel Tamponu (3 M Tris-HCl, pH 8.8)	14
3.5 Yürütme Tamponu (0.025 M Tris, 0.192 M Glisin, pH 8.3)	15
3.6 Numune Tamponu (0.0625 M Tris-HCl pH 6.8)	15
3.7 Jelin Boyanması İşlemi	15
3.8 Jelden Boya Çıkarma İşlemi	15
3.9 Diğer Kimyasallar ve Özellikleri	16
3.10 Kesikli Tampon Sistemli Jelin Hazırlanması	17
3.10.1 Ayırma Jelin Hazırlanması	17
3.10.2 Stoklama Jelin Hazırlanması	18

3.11 Ayırma Jelin Plağa Dökülmesi İşlemi	18
3.12 Stoklama Jelin Plağa Dökülmesi İşlemi	19
3.13 Serum Numunelerinin Sulandırılması ve Jele Yükleme İşlemi	20
<b>4.BULGULAR</b>	22
<b>5.TARTIŞMA ve SONUÇ</b>	23
<b>6. KAYNAKLAR</b>	26
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	31

## ÖZET

Bu çalışmada Çıldır Gölünde yaşayan *Cyprinus carpio* (L., 1758) bireylerinin serum proteinleri üzerine farklı dozlardaki bakır sülfat ( $\text{CuSO}_4$ )'ın etkisinin elektroforetik yönden incelenmesi araştırıldı. Balıklar 3 gruba ayrıldı; I. grup normal su ortamında, II. grup 0.1 ppm ve III. grup 0.3 ppm düzeyinde bakır sülfat içeren su ortamında bekletildi. Çalışma sonunda elde edilen serum numuneleri Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)'nde yürütüldü. II. ve III. gruptaki balıkların serum protein bantlarında kontrol grubuna göre kalınlaşmalar olduğu tespit edildi. Bakır sülfatın 0.1 ppm ve 0.3 ppm dozlarında toksik etki yaptığı ve 40 kD ve 43 kD'luk protein bantlarının oluşmasına yol açtığı, bu oluşumunda toksikasyon stresi ve immun sistemin uyarılmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Bakır sülfat, *Cyprinus carpio*, serum protein, SDS-PAGE.

## ABSTRACT

In this study, the electrophoretic effects of different doses of copper sulphate on serum proteins extracted from *Cyprinus carpio's* (L., 1758) which were caught from ıldır lake were investigated. Fish were separated from 3 groups; 1<sup>st</sup> group in normal water environment, 2<sup>nd</sup> group in 0,1 ppm and 3<sup>rd</sup> group were left in water which contain 0,3 ppm copper sulphate. At the end of study, serum samples were let run in sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). It was determined that, each serum protein bands of the 2<sup>nd</sup> and the 3<sup>rd</sup> group fishes get thickker. 0.1 ppm and 0.3 ppm doses of copper sulphate made toxic effect and it was caused 40kD and 43kD protein bands formation; it was thought that this formation is a result of toxication stres and stimulation of immune system.

**Key Words:** Copper sulphate, *Cyprinus carpio*, serum protein, SDS-PAGE.



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### 1. Simgeler

ppm	Milyonda bir kısım
mg	Miligram
L	Litre
°	Derece
kg	Kilogram
cm <sup>3</sup>	Santimetreküp
km <sup>2</sup>	Kilometrekare
m	Metre
rpm	devir / dakika
ml	Mililitre
sn	Saniye
dk	Dakika
gr	Gram
M	Molar
%	Yüzde
µl	Mikrolitre
µg	Mikrogram
kD	Kilodalton
V	Voltaj
mA	Amper

### 2. Kısaltmalar

Cu	Bakır
Fe	Demir
Zn	Çinko
Pb	Kurşun
Hg	Civa

Co	Kobalt
Mn	Mangan
Cr	Krom
Se	Selenyum
Ni	Nikel
Cd	Kadmiyum
DNA	Deoksiribonükleik Asit
NaCl	Sodyum klorür
HCl	Hidroklorik Asit

## RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa No
Resim 2.3.1: Sazan balığı ( <i>Cyprinus carpio</i> )	7
Resim 2.4.1: Çıldır Gölü' den Bahar Görünümü	9
Resim 2.4.2: Çıldır Gölü' nde kış aylarında sazan avı	10
Resim 4.1: Bakır sülfat'a maruz bırakılan <i>Cyprinus carpio</i> ' nun SDS-PAGE yöntemiyle elde edilen serum proteinlerinin elektroforegramı	20

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 3.3.1: Total protein tayin prosedürü.....	11
Çizelge 3.10.1: Değişik Konsantrasyonlarda Ayırma Jeli Hazırlama Prosedürü.....	15
Çizelge 3.10.2: Değişik Konsantrasyonlarda Stoklama Jeli Hazırlama Prosedürü.....	16

## 1. GİRİŞ

Çağımızda doğal dengeyi, insan ve hayvan sağlığını tehdit eden en önemli tehlikelerin başında çevre sorunlarının geldiği ve sorunların her geçen gün gittikçe büyüyen boyutlarda karşımıza çıktığı görülmektedir. Günümüzde sürdürülen hızlı endüstrileşme atılımları, aşırı kentleşme ve yoğun tarımsal savaş uygulamaları oldukça karmaşık çevre sorunlarını da beraberinde getirmektedir. Bu tür etkinliklerle çevreye yayılan binlerce kimyasal madde atığının neden olduğu çevre kirlenmeleri artık dünyada evrensel sorun olarak kabul edilmektedir [1].

Organizmalar beslenme ve yaşam özellikleri gereği aynı metali farklı şekillerde biriktirebilmektedirler [2]. Su ekosistemine ulaşan ve çeşitli formlarda bulunan metaller su canlıları tarafından; ortam suyunda bulunan çözünmüş ya da organik moleküllere bağlı iyonların su ile birlikte alınması şeklinde, içinde ağır metal birikmiş besin maddeleri ile, yüzeylerinde ağır metalleri absorbe etmiş sestonlar ve toksik metal iyonları ile organizmaların ürettiği bazı maddeler arasında ortaya çıkan çekim sonucu absorpsiyon şeklinde bünyeye alınmaktadır [3].

İnsan ve canlı yaşamı için hayati öneme sahip olan suyun kullanılabilir olması için tehlikeli kimyasallardan ve bakterilerden temizlenmesi gerekmektedir. Ayrıca derelerden ırmaklardan ve göllerden alınarak yerleşim yerlerindeki insanların kullanımına sunulan su belirli standartlara uymak zorundadır. Aksi durumda kullanılması tehlikeli sonuçlar doğurabilmektedir. Günümüzde teknolojinin gelişmesi, nüfus artışı gibi etkenlerden dolayı su kaynakları olan dereler, göller ve yeraltı suları aşırı kirlenme ile yüz yüze kalmaktadır. Yerleşim yerlerinin (şehir, kasaba, vs.) ve fabrikaların atık suları derelere veya göllere bağlanmaktadır. Atık sulardaki kimyasal maddeler ve organik bileşikler suda çözünmüş olan oksijenin miktarının azalmasına sebep olmaktadır. Bu da suda yaşayan bitki ve hayvanların ölüm oranlarını artırmaktadır. Bu tür sular daha koyu renge ve pis kokuya sahiptir. Hatta bazı göller veya derelerde aşırı kirlenme sonucu canlı yaşamı sona ermiş ve içerisinde atıklardan meydana gelen adacıklar oluşmuştur. Çiftçiler tarafından daha verimli ürün elde edebilmek için kullanılan gübreler, yağmur gibi etkenlerle yeraltı ve yerüstü sularına karışmaktadır. Yüksek oranda nitrat ve fosfat içeren gübreler suya karıştığında suda

yosunların daha fazla üremesini sağlar, bu da yosunların diğer canlılardan daha fazla oksijen kullanmasına sebep olur ve diğer canlıları tehdit eder [4].

Yaygın ve bilinçsiz bir şekilde kullanılan pestisitlerin yağış suları ile akarsular, oradan da iç sular ve denizlere ulaşmaları, su kirliliğinin oluşmasında önemli bir etmen olarak karşımıza çıkmaktadır. Ekosistemin normal koşullarını bozan bu kirleticiler sucul organizmalarda besin ve su yoluyla alınarak, ortamdaki düzeyine bağlı olarak türler arasında veya aynı türün farklı dokularında değişik oranlarda birikebilmekte ve organizmada metabolik değişikliklere, davranış bozukluklarına ve diğer toksikolojik oluşumlara neden olabilmekte ve dönüşümsüz zararların ortaya çıkmasına yol açmaktadırlar [5,6]. Günümüzde çevresel sorunlar içinde en tehlikeli kabul edileni ağır metal kirliliğidir [7].

Kimyasal bir kirlilik olarak kabul edilen ağır metal kirliliği çeşitli kaynaklardan ortaya çıkabilir olmaları, ortamdan kaldırılmasının zor olması ve kolaylıkla besin zincirine girerek canlılarda artan yoğunluklarda birikebilmeleri nedeni ile diğer kimyasal kirleticiler arasında ilk sırada yer almaktadırlar [8].

Bu çalışmada, bakır sülfat ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) kullanılarak, Çıldır Gölünden yakalanan *Cyprinus carpio* (L., 1758) bireylerinin serum proteinleri üzerine bir ağır metal olan Cu'nun etkisinin elektroforetik yönden incelenmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Ağır Metaller

Ağır metaller, iz elementler veya eser elementler olarakta adlandırılabilirler. Ağır metallere örnek olarak Cu, Fe, Zn, Pb, Hg, Co, Mn, Cr, Se, Ni, Cd sayılabilir [9]. Doğada bulunan bu elementler belli bir doza kadar canlı yaşamı için gereklidir. Ancak doğal kaynaklardan; jeolojik ve volkanik faaliyetler, erozyon, yangınlar, maden arama işleme, evsel atıklar, tarımsal faaliyetler, endüstriyel atıklar gibi insan faaliyetleri sonucunda bu elementlerin su ortamındaki derişimleri artmaktadır [10,11].

Metallerin büyük bölümü canlılarda birikim yapmaktadır. Birikim sonucu canlıların bünyesinde yoğunlaşan bu elementler etkili dozlara ulaştıklarında ciddi hastalıklara hatta ölümlere sebep olabilirler [10,12]. Bazı ağır metaller canlı organizmalar için esansiyel oldukları halde yüksek konsantrasyonda toksiktirler. Bunlar Cu, Cr, Fe, Mn, Mo, Zn ve Ni' dir. Bununla birlikte Cd, Hg ve Pb gibi ağır metaller canlılar için esansiyel olmayıp eser miktarları ile toksik etki gösterebilir [13].

Gelişen endüstri ve daha modern bir yaşam sağlama amacıyla sürdürülen çabaların istenilmeyen bir sonucu olarak ortaya çıkan besin kirlenmeleri günümüzde de artan bir tehlike halinde önemini korumakta ve toplum sağlığını tehdit eden en önemli unsurlardan biri olarak karşımıza çıkmaktadır [14]. Doğal dengeyi bozan kirletici unsurlar; organik maddeler, endüstriyel atıklar, petrol türevleri, yapay tarımsal gübreler, deterjanlar, radyoaktivite, pestisitler, inorganik tuzlar, yapay organik kimyasal maddeler ve atık ısı şeklinde gruplandırılabilirler. Ağır metaller bu sınıflandırmaya göre endüstriyel atıklar ve bazı pestisitler içerisinde yer almaktadır [15].

Pestisitler; suda yaşayan canlılara veya su kanallarında yaşayan bitkilere karşı yapılan ilaçlamalarla, yerleşim bölgelerinde kanalizasyon ve lağım sularına pestisitlerin karışması ve pestisit imalat artıklarının deşarjı ile su kaynaklarına geçmektedirler. Pestisitler aynı zamanda yağmur suları, drenaj suları, yüzey akışları ve sulama sularına karışarak da bu sulara kontamine olurlar. Ayrıca doğrudan suya yapılan uygulamalar sonucunda (örn; sivrisinek mücadelesinde) pestisitler su bitkileri veya dip çamurları tarafından tutulurlar [16].

Pestisitlerin su içerisinde hareketliliği kısmen suda eriyebilirlik ve formülasyonuna bağlıdır. Suda eriyebilen ya da suda eriyebilecek şekilde formüle edilen pestisitler su içerisinde kısa sürede dağılırlar. Fakat toz veya granül formda bulunanlar su içerisinde askıda kalarak uzun süre aktif maddelerinin yayılmasına neden olurlar. Balıklar solungaçları vasıtasıyla su ortamından bunları absorbe ederek yada bulaşık materyalleri besin olarak tüketimi sonucu pestisitle bulaşabilir hatta zehirlenebilir [17].

Pestisitler sucül hayat için potansiyel bir tehlike olarak önem taşırlar, çünkü bu kimyasallar canlı organizmaları öldürmek üzere üretilmiş ve kullanılmaktadırlar [18].

Pestisitlerin balıklara etkileri değişik şekillerde görülür. Direkt olarak öldürme sözü konusu olabileceği gibi yumurta koymayı ve üremeyi durdurmak suretiyle de balık popülasyonu üzerinde etkili olabilmektedirler. Ayrıca dokularda meydana getirdikleri hasarlar ile balıklarda duyarlılığa yol açarak mevsimlik ısı değişimleri ve geçici açıklıktan gereğinden fazla etkilenirler. Yavru balıklar ise hassas oldukları için bu durumdan daha fazla zarar görürler [19].

## **2.2 Bakır Sülfat**

Bakır, doğal çevrede ve farklı ekosistemlerde en yaygın halde bulunan metallere biridir. Tüm canlılar için elzem olan bir iz elementtir. Dünya su sistemlerinde doğal sular, sedimentler ve su canlılarında nispeten yüksek yoğunluklarda bulunur. Bakırın su ortamındaki besin zincirinde biyolojik yönden yoğunlaştığına ilişkin çok ve net bilimsel veriler bulunmamaktadır. Bununla beraber, tatlı sular kıyı sularına kısa sürede yüksek boyutlarda karışan çözünmüş bakır tuzları aynı ortamda bulunan su canlıları için kısa sürede öldürücü olabilmektedir. Öte yandan, fizyolojik yaşam için gerekli olan düzeylerin üzerinde alınan veya buna yol açabilen su yoğunluklarına maruz kalan canlılarda zehirlenme riski kaçınılmaz olabilmektedir. Sularda bulunan çözünmüş bakır yoğunluğu 0,5 ppm' e ulaştığında algler için öldürücü olabilmektedir. Yine doğal sularda birkaç ppm düzeyinde bulunan bakır kirlilikleri bir çok balık türü için öldürücü olabilmektedir. Nitekim, alabalıklar için zehirleyici yoğunluğu 0,14 mg/L olarak saptanmıştır [20].



Bakır bir soymetal olarak sınıflandırılmakta olup birçok mineralin parçası olarak veya elemental halde doğada bulunur. Moleküler ağırlığı 63.55, yoğunluğu 8.94, erime noktası 1083°C' dir. Bakır, nitrik asit ve sıcak sülfürik asit ile çözünür, hidroklorik asit ve amonyakta çok az çözünür, suda ise çözünmez. Bakır, vücutta karaciğer, böbrek, dalak, kalp, kas, mide, bağırsak, tırnak ve saç gibi çeşitli dokularda yaygın bir şekilde bulunur. Bakırın en yüksek konsantrasyonları karaciğerde olmakla birlikte çeşitli hücrelerde de küçük miktarlarda bulunur. Bakır iyonları hem okside ( $Cu^{+2}$ ) hem de redükte ( $Cu^{+}$ ) halinde bulunabilmektedir [21].

Bakır sülfat en yaygın kullanılan zirai mücadele ilaçlarından birisidir. Bakır sülfat, kültür balıkçılığında, fungal ve paraziter hastalıkların tedavisinde, tarım alanlarında bitkileri tahrip eden zararlılarla mücadelede, havuzlarda zararlı otların yok edilmesinde ve su bitkilerinin büyümesinin kontrol altında tutulmasında sıkça kullanılan kimyasal maddelerden biridir [22].

### **2.2.1 Bakır Metabolizması**

Bakır metabolizması, bakırın çeşitli organik ligandlara gidiş ve oradan dönüşümü içerir. Karaciğer bakır metabolizmasındaki en önemli organdır. Karaciğer bir bakır deposu, kana alınan seruloplazminin sentez merkezi ve safra atılımında gerekli olan bakır komplekslerinin üretim merkezi olarak işlev görür. Bakırın insandaki yarılanma ömrü yaklaşık 4 haftadır [21].

### **2.2.2 Bakır Toksisitesi**

Bakır, homeostatik kontrol için gerekli bir mikro besin olmasına rağmen diyetle aşırı alımlar bazı durumlarda toksik olabilir. Bakır toksikasyonu tür, genetik, yaş ve diyet gibi birçok faktöre bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Bu durum, bakır toksisitesini sadece bakırın alımının veya atılımının etkinliğindeki değişikliklere değil aynı zamanda diğer hepatotoksik ve koruyucu faktörlerin alımındaki değişimlerin, bakırın hücresel yıkımındaki değişimlere ve spesifik bakır taşıyıcı ve depolayıcı proteinlerdeki değişimlere de bağlı olduğunu göstermektedir. Hücre membranlarındaki artmış lipid peroksidasyonu ve DNA hasarı gibi bakırın toksik etkilerinin çoğu, bakırın serbest oksijen radikalleri üretiminde oynadığı rolle alakalıdır [23].

### 2.3 *Cyprinus carpio* (L., 1758)' nın Sistematikteki Yeri

Regnum (Alem)	: Animalia
Subregnum (Alt alem)	: Metazoa
Phylum (Şube)	: Chordata
Subphylum (Alt şube)	: Vertebrata
Superclass (Üst sınıf)	: Pisces
Class (Sınıf)	: Osteichthyes
Subclass (Alt sınıf)	: Actinopterygii
Superordo (Üst takım)	: Teleostei
Order (Takım)	: Cypriniformes
Family (Aile)	: Cyprinidae
Genus (Cins)	: <i>Cyprinus</i>
Species (Tür)	: <i>Cyprinus carpio</i> (24).

#### 2.3.1 Familya ve Cins Özellikleri

Ülkemizde yaşayan kemikli balıkların, özellikle de tatlısu balıklarının büyük bir kısmını oluşturan bu familya, Kura-Aras Havzasında da oldukça yaygındır. Bu balıklarda baş çıplak, vücut ise sikloit tip pullarla örtülüdür. Ağızda maksiller (maxiller) diş bulunmaz. Bazı türlerde ağız protraktil karakterde (körüklü) olup, tıpkı bir körüklü hortum şeklinde ileriye doğru uzayıp kısalabilir. Yağ yüzgeci (adipöz doku) bulunmaz. Bu familyanın en karakteristik özelliği olarak farinks dişlerinin varlığı gösterilebilir. Bu dişler genellikle operkulumun altında ve 4. solungaç yaylarının gerisindeki faringien kemikler üzerinde olup sıra, sayı ve şekilleri türlere göre büyük farklılıklar gösterir. Bu nedenle, cinslerin ve türlerin ayırımında önemli diagnostik özellikler olarak dikkate alınır. Sırtta daima tek dorsal yüzgeç vardır. Ventral yüzgeçler ise, bütün cins ve türlerde abdominal tiptedir. Hava keseleri mevcut olup, daima bir boğumla iki loba ayrılmıştır. Ayrıca pneumatofor adı verilen bir kanal sayesinde özofagus ile devamlı irtibat halindedir. Omur şeridinin ilk dört omuru birbiriyle az çok kaynaşarak Weber kemikleri denilen

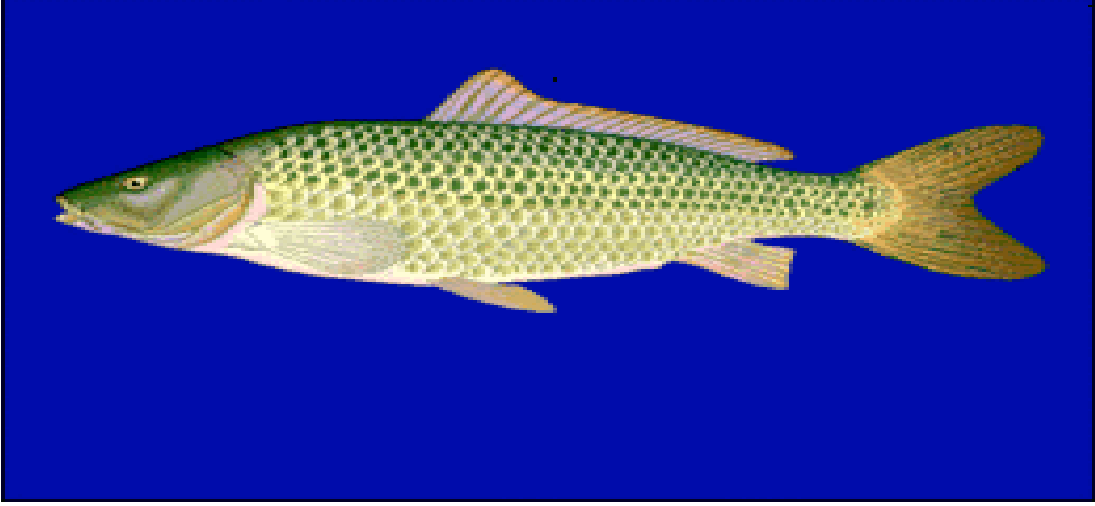
özel bir formasyon meydana getirmişlerdir. Mide civarında plorik çekum denilen kör bağırsaklar bulunmaz. Genellikle bıyiksız iseler de bazen bir veya iki çift bıyık taşıyan temsilcilerine rastlanmaktadır. Ağız konumu itibariyle terminal, yukarıya yönelik veya alt durumlu olabilir.

Çoğunlukla sürüler halinde yaşarlar. Üreme zamanı ilkbahar ve yaz aylarıdır. Bu zamanda özellikle erkeklerin daha parlak ve süslü bir görünüm kazandığı, özellikle baş ve vücutları üzerinde küçük üreme tüberküllerinin meydana geldiği dikkati çekmektedir.

Ekonomik önemi olan bu familyanın bazı temsilcileri çabuk büyümeleri, yapay dölleme yoluyla yetiştirilmelerinin nispeten kolay olması gibi nedenlerle doğal yaşam alanlarının dışındaki bir çok ülkelere insanlar tarafından taşınmışlardır.

Esas itibariyle, Eski Dünya Kıtaları adını verdiğimiz Asya, Avrupa ve Afrika' da yayılış göstermektedirler. Bununla beraber, Amerika'nın Kuzeye yakın bölgelerinde de bulunmaktadır. Daha da genelleştirecek olursak, Madagaskar, Avustralya, Yeni Zelanda, Güney Amerika, Kuzey Kanada ve Alaska, Grönland ve İzlanda hariç olmak üzere bütün dünyaya dağılmışlardır. Madagaskar ve Amazon civarındaki mevcudiyetleri insanlar tarafından çeşitli maksatlar için taşınmalarıyla mümkün olmuştur. Bu familya dünya yüzünde 15000'e yakın tür ile temsil edilirse de, Türkiye'de 30 cins ve 70 türü yaşamaktadır [24,25].

### 2.3.2 Tür Özellikleri



Resim2.3:Sazanbalığı(*Cyprinus carpio*)[26].

Vücut yanlardan yassılaştırmış ve büyük pullarla kaplıdır. Yan çizgide 26-30 pul bulunur. İki çift bıyıkları vardır. Farinks dişleri üç sıralı olup genellikle 1.1.3-3.1.1. şeklindedir. Boyları 1 m., ağırlıkları 30 kg kadar olabilmektedir. 3-4. yaşlarında eşeyssel olgunluğa erişirler. Nisandan hazirana kadar yumurtalarını bitkilerin bulunduğu sığ alanlara bırakırlar. Dişinin yaş ve büyüklüğüne bağlı olarak bir defada bırakılan yumurta sayısı 1.000.000-1.600.000 arasında değişir. 16°C' lik suda yumurtalar 5 günde açılır. Su sıcaklığının artmasıyla açılma süresi 3 güne kadar düşebilir. Larvalar 2-3 gün süre ile yedek besin torbalarından yararlanırlar ve daha sonra planktonlarla ve özellikle zor planktonlarla beslenmeye başlarlar. Yedek besin torbası 8-10 gün sonra tümüyle absorbe edilir. Daha sonra su tabanındaki böcek ve solucanlarla beslenmeye başlarlar. Erginleri omnivor bir beslenme gösterir. Su sıcaklığının 17-25°C' ye yükseldiği zamanlarda vücuda alınan besin miktarında bir artış görülür. Bu sırada algleri de yedikleri saptanmıştır. Su sıcaklığı 2-5°C olunca artık beslenmezler ve su tabanındaki çamurlu alanlarda kış uykusuna yatarlar. Bu sırada avlanmaları çok güçtür. Oksijen yokluğuna karşı dayanıklıdırlar. Kışın, litrede 3, yazın 7 cm<sup>3</sup> oksijen içeren sularda rahatlıkla yaşarlar. Büyüme hızı çok hızlıdır. Yılda 5 kg kadar ağırlık kazanabilirler. 15 ve 16. yüzyıllardan sonra durgun ve sıcak sularda yapay olarak üretilmeye başlanmıştır. Denetim altında yapılan çaprazlamalar sonucunda vücudunun bazı bölgelerinde pul içeren aynalı sazanlar elde edilmiştir. Eğer çaprazlamalardaki denetim kaldırılırsa yeniden pullu bireyler şekline dönüşürler [24].

## 2.4 Çıldır Gölü' nün Özellikleri



Şekil 2.4.1: Çıldır Gölü' den Bahar Görünümü [27].

Ardahan ve Kars il sınırları içerisinde kalan ıldır Gölü 123 km<sup>2</sup> alanı ile Doğu Anadolu Bölgesi'nin en büyük tatlı su ve en büyük ikinci göldür. Deniz seviyesinden 1965 m yüksekte bulunan gölün en derin noktası 22 metre ve tektonik oluşumlu bir göldür. Birçok dere ve pınarlarla beslenmekte olan gölün tek çıkıtısı kuzey batısında yer alan Ermenistan sınırında bulunan Arpaçay'ın kolu olan Telek ayı'dır. En büyük olanı Akçakale harabelerinin yanında yer alan adadır. Göl etrafında çok az bitki örtüsü gelişmiştir ancak gölü çevreleyen otlaklarda yoğun hayvancılık yapılmaktadır.

Yılın dört mevsiminde yapılabilen balıkçılık yöre halkı için önemli bir ekonomik gelir kaynağı teşkil etmektedir. Gölde balıkçılık önemli bir insan aktivitesi olup, kışın buz tutan gölde kalın buz tabakası kırılarak balık avlanmaktadır. Gölde yakalanan en önemli balık türü Sazan (*Cyprinus carpio*)'dır. Ancak kurak geçen mevsimlerde, göl seviyesi hızla çekilmekte ve bu nedenle sazan gibi türlerin üremesi için gerekli sızlıklar daralmaktadır. Ayrıca birçok balıkçının yasaklara uymayarak kontrolsüz avlanmaları balık stoklarını olumsuz etkilemektedir.



Şekil 2.4.2: Çıldır Gölü'nde kış aylarında sazan avı [28].

Gölün sadece kuzey batısında seddeyle ayrılmış bataklık ve sulak ayırklar bulunur. Genelde göl çevresi mera vasıflı olup, sert bölge iklimi tarıma olanak vermez.

Göl ve çevresindeki tarım alanlarında kullanılan tarımsal kimyasalların (özellikle de yüksek oranda azot içeren gübrenin) bilinçsizce ve yörenin ekolojik ve iklimsel koşulları göz ardı edilerek kullanılmasının göl üzerindeki kötü etkileri belirtilmektedir.

Gölde aşırı bir kirlilik gözlenmemesine rağmen yine de artan bir evsel kirlilik göze çarpmaktadır. Adalardaki insan baskısının artması bu alanları kuluçka için kullanan türleri olumsuz etkilemektedir. Yapımı planlanan otel ise yeniden gözden geçirilmelidir. Son yıllarda artan turizmle birlikte insan baskısı artmış ve turistik tesisler inşa edilmeye başlanmıştır [28].

### 3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

#### 3.1 Örneklerin Toplanması ve Muhafaza Edilmesi

Bu incelemede yaşları aynı olan (4 yaşında) , ağırlıkları 350-400 g arasında değişen her bir grup için 6' şar adet *Cyprinus carpio* üzerinde çalışıldı. *Cyprinus carpio*' lar Çıldır Gölünden fanyalı ve galsama ağları kullanılarak yakalandı. Elde edilen örnekler laboratuara getirilerek 500' er L' lik tanklara alındı ve 15 gün süreyle ortama adaptasyonları sağlandı. Daha sonra 10 gün süreyle I. grup normal su ortamında, II. grup 0.1 ppm ve III. grupta 0.3 ppm düzeyinde bakır sülfat (CuSO<sub>4</sub>) içeren su ortamında tutuldular. Özellikle seçilen balıkların sağlık durumlarının iyi olmasına dikkat edildi. Süre sonunda kuyruktan alınan kan numuneleri +4°C ve 3000 rpm' de 10 dk santrifüj edilerek serumun ayrılması sağlandı. Alınan serumlar analizler yapılncaya kadar -20°C' de saklandı. Numunelerin protein konsantrasyonları biüret yöntemi ile ölçüldü [29].

Fanyalı ve Galsama Ağlar:

Üç katlı olan fanyalı ağların, dıştaki gömlekleri büyük, ortadakiler ise küçük gözeneklere sahiptirler. Büyük gözenekli ağlardan geçen balıklar küçük gözenekli ağlara takılırlar. Galsama ağları ise tek katlıdır. Hem fanyalı hem de galsama ağları çeşitli ebatlarda olabilirler. Genellikle bu ağlar durgun sularda ve akıntısı yavaş olan akarsularda kıyıdan kıyıya veya göl aynasına döşenerek balık avcılığında kullanılmaktadır.

#### 3.2 Balıklarda Kan Alma Yöntemleri

Balıkların kalplerinden ve kuyruklarından yeterli miktarda kan alabilmek için aşağıda belirtilen işlemlerden yararlanır.

Canlı: Kan alınacak numune canlı iken başı yukarıda ve kuyruğu aşağıda olacak şekilde tutulur ve bir vuruşta kuyruğu kesilerek dorsal aort damarından kan alımı gerçekleştirilir.

1. Canlı iken

a- Kalpten

b- Kuyruk kesilerek

### **3.2.1 Kalpten Kan Alınması**

Sazanlar canlı iken, elektroşok, anestezi veya başa darbe ile vurularak bayıldıktan hemen sonra balık sol tarafına yatırılır. Diğer bir kişinin yardımı ile balık karın ve kuyruk kısmından tutulur. Sağ solungaç kaldırıldıktan sonra *cleithrum* kemiğinin oluşturduğu kemerin hemen önünden alt üçte bir mesafeden 1.3 nolu hipodermik iğne ile yatay düzleme 40-45 derecelik bir açı yapacak şekilde direkt kalbe girilip enjektörle yeterli miktarda (3-4 ml) kan alınır. Ayrıca, laparotomi yapılan bir balıktan hipodermik iğne ile kalbe girilip balığın ağırlığı ile orantılı olarak istenilen miktarda kan alınır.

### **3.2.2 Kuyruktan Kan Alınması**

Balıklar, başlarının hemen arkasından kuyruk kısmı aşağıda kalacak şekilde statife bağlı bir kısıpkaçla tespit edilirler. Pedünlül hemoskülatör ile kan damarlarını kapatamayacak şekilde sıkıştırılıp hareketsiz hale getirildikten sonra keskin bir bıçak ile kuyruk tek darbeye kesilir ve dorsal aorttan akmakta olan kan normal plastik tüplere direkt alınır.

Hangi yöntemle olursa olsun, balıktan kan alma işlemi en fazla 45 saniyede tamamlanmalıdır.

2. Elektroşokla

a- Kalpten

b- Kuyruk kesilerek.

Elektroşok: Kan almadan önce balıklar bireysel olarak içerisinde 20 L su bulunan kovalara alınır. Elektroşok (medica) ile suya 5-10 sn 5 voltluk elektrik akımı verilerek balıklar hareketsiz hale getirilir.

3. Anestezi edilerek

a- Kalpten

b- Kuyruk kesilerek



Anestezi: Anesteziye tabii tutulacak balıklarda içerisinde 20 L su bulunan ve 0.4 ml Chinaldin (C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>N) karıştırılan kovalara tek tek bırakılır, 15-45 saniyede hareketsiz hale getirilir.

#### 4. Başlarına darbe

a- Kalpten

b- Kuyruk kesilerek

Darbe: Bir yardımcı tarafından başın arka kısmından ve kuyruk kısmından tutulan balığın başına uygun ağırlıkla bir cisimle darbe yapılır.

#### 5. Laparotomi

a- Kalpten

Laparotomi: Bir yardımcı tarafından sırt üstü yatırılan ve hareketsiz hale getirilen balığın göğüs ve karın boşluğu arzu edilen şekilde dişli pens ve bistüri ile açılır.

### 3.3 Total Protein Tayini

Derin dondurucudan çıkarılan serum numunelerinin çözülmesi beklenildi ve total protein tayini işlemine geçildi. Analiz öncesi her serum numunesi serum fizyolojikle 1:10 sulandırıldı. Numunelerin total protein tayini biüret metoduyla yapıldı [29].

Çizelge 3.3.1. Total protein tayin prosedürü.

Çözeltiler	1-Kör tüpü	2-Standart tüpü	3-Numune tüpü
Albumin standardı (10mg/ml)	--	0.1 ml	--
Serum (Numune)	--	--	0.1 ml
%0,9 NaCl	1.4 ml	1.3ml	1.3 ml
Biüret çözeltisi	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml

Çizelge 3.3.1' de verilen sıraya göre kör, standart ve numune tüpleri hazırlandı. Bir numaralı tüp protein taşımayan "kör tüpüdür". Tüpler hazırlanırken biüret çözeltisi en

son ilave edildi ve iyice karıştırıldı. Oda sıcaklığında 30 dk bekletildikten sonra kör tüpü ile spektrofotometre 540 nanometre dalga boyunda sıfır absorbansa ayarlandı. Daha sonra standart ve numunelerin absorbansları ölçüldü.

Numunenin Protein Konsantrasyonlarının Hesabı:

$$\text{Numune Protein Konsantrasyonu (mg/ml): } \frac{\text{Numunenin Absorbansı}}{\text{Standartın Absorbansı}} \times 10$$

### **3.4 Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforez (SDS-PAGE) Çözeltilerinin Hazırlanması**

Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE), vertikal slab jel elektroforez sistemi kullanılarak Laemmli [30] ve O'Farrell [31] metodlarına göre yapılmıştır. Bu uygulama için aşağıdaki çözeltilerin hazırlanması yeterlidir.

#### **3.4.1 % 30'luk Akrlamid Çözeltisi**

7.5 g Akrlamid ve 200 mg Bisakrlamid hassas terazide tartılarak bir miktar distile suda eritildi. Total hacim 25 ml' ye tamamlandı. Bu çözelti oda sıcaklığında koyu renkli şişede 2-3 ay dayanıklıdır. Akrlamid çözeltisinin nörotoksik etkili olması nedeniyle çalışırken eldiven kullanıldı.

SDS-Poliakrilamid jel solüsyonu için pH ve molariteleri farklı stoklama ve ayırma jel tamponları hazırlandı.

#### **3.4.2 Stoklama Jel Tamponu ( 0.5 M Tris-HCl , pH 6.8 )**

1.5 g Tris ve 100 mg SDS hassas terazide tartılarak yaklaşık 10 ml dH<sub>2</sub>O' da eritildi. Daha sonra pH' sı 6.8 olana kadar HCl çözeltisinden (1M) ilave edildi (yaklaşık 1 M HCl' den 7ml). Total hacim dH<sub>2</sub>O ile 25 ml' e tamamlandı ve +4°C' de muhafaza edildi.

#### **3.4.3 Ayırma Jel Tamponu ( 3 M Tris-HCl, pH 8.8 )**

9.075 g Tris ve 0.2 g SDS (Sodyum dodesil sülfat) hassas terazide tartılarak 7.5 ml dH<sub>2</sub>O' da eritildi. Daha sonra tamponun pH' sı 1 M HCl çözeltisi ile 8.8' e ayarlandı.

Total hacim dH<sub>2</sub>O ile 25 ml' ye tamamlandı ve +4°C' de muhafaza edildi. 1 M HCl çözeltisi, 11.7 M' lik stok HCl'den 8.55 ml alındı ve total hacim dH<sub>2</sub>O ile 100 ml' ye tamamlanmak suretiyle hazırlandı.

### **3.5 Yürütme Tamponu ( 0.025 M Tris, 0.192 M Glisin , pH: 8.3 )**

3.03 g Tris, 14.4 g Glisin ve 1g SDS hassas terazide ayrı ayrı tartıldı ve ilk önce Tris ve Glisin 750 ml dH<sub>2</sub>O' da eritildi, sonra SDS eklenerek pH 8.3' e ayarlandı. Total hacim distile suyla 1000 ml' ye tamamlanarak +4 °C' de muhafaza edildi.

### **3.6 Numune Tamponu (0.0625 M Tris- HCl, pH: 6.8)**

Stacking jel tamponu (0.5 M Tris- HCl, pH 6.8)	1.25 ml
SDS	195 mg
Gliserol (%99'luk )	1 ml
2- Merkaptoetanol	0.5 ml
Bromophenol blue	1-2 mg
Distile suyla 10 ml' ye tamamlandı ve +4°C' de muhafaza edildi.	

### **3.7 Jelin Boyanması İşlemi**

Boyama işlemi için önce Coomassie blue çözeltisi hazırlandı.

Boyama çözeltisi:

Coomassie Brilliant Blue R.250	125 mg (%0.025)
Ethanol	200 ml (%40)
Asetik Asit (CH <sub>3</sub> COOH)	35 ml (%7)

Total hacim distile suyla 500 ml' e tamamlandı. Hazırlanan bu boyama solüsyonu 20-40 defa kullanılabilir. Jeller bu boya solüsyonunda 2-4 saat bekletilmek suretiyle boyanırlar. Her jel için kendi hacminin 5-10 katı hacminde boya solüsyonu kullanıldı. Boyama esnasında hafifçe çalkalama işlemi jellerin daha iyi boyanmasını sağladı. Boyama işlemi çalkalamalı benmari su banyosunda 56-60°C' de bekletilmek suretiyle

daha kısa sürede (20 dk) tamamlanabilir. Bu esnada sık sık çalkalama işlemi yapılmalıdır.

Bu yöntem her çizgide 0.1-0.5 mg proteini boyayabilir.

### 3.8 Jelden Boya Çıkarma İşlemi

Jeli boyadan çıkarma işleminde iki metot vardır. Bunlar;

1. Metot;

Methanol %40' lık

Asetik asit (CH<sub>3</sub>COOH) %7' lik

Bu solüsyonda jeller 1 saat süreyle bekletilerek ve ara sıra çalkalamak suretiyle boya çıkarma işlemi gerçekleştirilir. Protein bantları dışındaki jel kısımlarının daha iyi beyazlaması isteniyorsa süre daha uzun tutulmalıdır.

2. Metot;

Methanol %5

Asetik asit (CH<sub>3</sub>COOH) %7.5

Çalışmamızda boyadan çıkarma işleminde ikinci metod kullanıldı. Bu solüsyonda jellerin boyadan çıkarma işlemi bir gecede tamamlandı. Ancak, bu süre içinde boyadan çıkarma solüsyonu 2-3 defa değiştirilerek daha iyi sonuç elde edildi.

### 3.9 Diğer Kimyasallar ve Özellikleri

1. TEMED (N,N,N',N' - Tetra methylethylen diamine):

Hazır preparat olarak minimum %99' luk hazır çözeltisi bulunmaktadır. Bu çözelti koyu renkli şişede +4°C' de konsantre halde süresiz bekletilebilir.

2. %1' lik Amonyum persülfat: Poliakrilamid jel çözeltisine polimerizasyon için ilave edilen bir ajandır. Karışıma çok az ilave edilmesi nedeni ile 5ml' lik veya daha az hacimde, özellikle deneyden hemen önce hazırlandı. Bu çözeltinin stabil olmaması nedeniyle her deneme için tazesi hazırlandı.

### 3.10 Kesikli Tampon Sistemli Jelin Hazırlanması

Kesikli jel sistemi, proteinlerin stoklandığı ve birbirinden ayrıldığı iki farklı konsantrasyonda iki ayrı jelden oluşmaktadır.

Bu jelin hazırlanması için ayırma ve stoklama çözeltileri gereklidir.

#### 3.10.1 Ayırma Jelin Hazırlanması

Çizelge 3.10.1: Değişik Konsantrasyonlarda Ayırma Jeli Hazırlama Prosedürü.

	Ayırma jelin son konsantrasyonları (%)						
Stok çözeltisi (ml)	20	17.5	15	12.5	10	7.5	5
Poliakrilamid çözeltisi (%30)	20	17.5	15	12.5	10	7.5	5
Ayırma jel tamponu	3.75	3.75	3.75	3.75	3.75	3.75	3.75
%1 Amonyum persülfat	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75
TEMED	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Distile Su	5.49	7.99	10.49	12.99	15.49	17.99	20.49

Toplam hacim 30 ml olacak şekilde hazırlanır. Bu jel hazırlanırken dikkat edilmesi gereken husus; %1' lik amonyum persülfatın çözeltiliye en son katılmasıdır. Çünkü, çözeltiliye amonyum persülfat ilavesinden sonra polimerizasyon işlemi başlamakta ve kısa sürede gerçekleşmektedir.

### 3.10.2 Stoklama Jelin Hazırlanması

Çizelge 3.10.2: Değişik Konsantrasyonlarda Stoklama Jeli Hazırlama Prosedürü.

Stok çözeltiler (ml)	Stoklama Jelin Son Konsantrasyonları (%)			
	6	5	4	3
% 30 Poliakrilamid	2	1.67	1.33	1
Stok Jel Tamponu	2.5	2.5	2.5	2.5
% 1 Amonyum persülfat	0.5	0.5	0.5	0.5
TEMED	0.075	0.075	0.075	0.075
Distile Su	4.925	5.265	5.595	6.425

Total hacim 10 ml olacak şekilde hazırlanır. Bu çözeltiyi de hazırlarken %1' lik amonyum persülfat' in en son ilave edilmesine dikkat edilmelidir.

### 3.11 Ayırma Jelin Plağa Dökülmesi İşlemi

Plağa ilk önce ayırma jel dökülür. Proteinlerin birbirinden ayrılması %10' luk ayırma jelde yapılmıştır. %10' luk jel çözeltisi için;

%30' luk Poliakrilamid çözeltisi	10 ml
Ayırma jel tamponu	3.75 ml
%1' lik Amonyum persülfat	0.75 ml
TEMED	0.01 ml
Distile Su	15.49ml

Yukarıdaki miktarlar 30 ml jel çözeltisi hazırlamak için gerekli olan miktarlardır. Ayırma jel çözeltisinin toplam hacminin 10 ml olması yeterlidir. Bunun için yukarıdaki miktarlar 2/3 oranında azaltıldı. Beher içerisine 1:2 ayırma jel tamponu konuldu ve

arkasından 5.163 ml dH<sub>2</sub>O ilave edildi. Daha sonra 0.0033 ml TEMED ilave edildi. Eğer jel kalınlığı 1 mm' den küçük ise ortamdaki oksijen uzaklaştırılmalıdır. Bunun için çözeltiyi bir kaç dakika vakum etmek yeterlidir. Aksi takdirde ortamdaki oksijen polimerizasyonda gecikmeye neden olacaktır. Polimerizan ajan olarak % 1' lik amonyum persülfat kullanılmıştır. Amonyum persülfat ilave edildikten sonra çözelti hafifçe karıştırıldı. Hazırlanan ayırma çözelti 10 ml' lik enjektöre alındı ve vakit kaybetmeksizin düzenekteki boşluğa doldurulma işlemine geçildi. Ayırma jel çözeltisi köpürtülmeksizin düzenekteki işaretli yere kadar dolduruldu. Jelin üst yüzeyinin keskin ve düzgün bir çizgi haline gelmesini mutakiben hava ile temasını kesmek için jel yüzeyinde ince bir tabaka oluşturacak kadar dH<sub>2</sub>O ilave edildi. %1' lik Amonyum persülfat, 50 mg alınarak 5 ml dH<sub>2</sub>O' da çözmek suretiyle hazırlandı. Polimerize olan ayırma jelin üzeri naylon bir poşetle hava almayacak şekilde kapatıldı ve +4°C' de bir gece bekletildi. Böylece polimerize olmamış akrilamid ve bisakrilamidlerin polimerizasyonu sağlandı. Tam polimerizasyon sonrası akrilamid ve bisakrilamidin nörotoksitesisi ortadan kalkar, dolayısıyla bu aşamadan sonra jellerle direk temasta hiç bir sakınca yoktur.

### 3.12 Stoklama Jelin Plağa Dökülmesi İşlemi

Proteinlerin stoklanması %4' lük stoklama jel üzerinde yapılmıştır. %4' lük stoklama jel solüsyonu hazırlamak için, bir mikropipetle aşağıdaki çözeltilerden uygun miktarlarda alındı ve total hacim 3.5 ml' e tamamlandı.

Buna göre;

%30' luk Akrilamid çözeltisi	0.468 ml
Stoklama jel tamponu (pH 6.8, 0.5 M)	0.833 ml
%1' lik Amonyum persülfat	0.25 ml
TEMED	0.015 ml
Distile Su	1.95 ml

Toplam Hacim: 3.5 ml

Jel yüzeyindeki distile su boşaltıldı ve iki jelin kolay kaynaşması için ayırma jel yüzeyi stoklama tamponla yıkandı. Daha sonra numune yükleme çukurlarını oluşturmak için tarak cam levhalar arasına yerleştirildi. Tarağın kenarından stoklama jel çözeltisi bir enjektörle yavaş yavaş plağa aktarıldı. Ancak jel içinde hava kabarcığı bulunmamasına dikkat edildi. Bu arada tarak yerleştirildikten sonra protein uygulanacak kanallar cam kalemle işaretlendi. Stok stoklama jel solüsyonu polimerize olduktan sonra tarak alındı ve kanal aralıkları da bir lanset yardımıyla düzeltildi. Protein yükleme çukurları yürütme tamponuyla bir kaç defa yıkanarak jel artıkları temizlendi. Sonra elektroforez tankları yürütme tamponu ile (Tris-Glisin pH 8.6) dolduruldu ve plaktaki lastik conta ve klempiler çıkarıldı. Jel tanka yerleştirilerek plağın alt kısmında oluşan hava kabarcıkları enjektör yardımıyla uzaklaştırıldı. Bu işlemlerden sonra serum numunelerinin hazırlanmasına geçildi.

### **3.13 Serum Numunelerinin Sulandırılması ve Jele Yükleme İşlemi**

1 ve 5 numaralı jel çukuruna molekül ağırlıkları bilinen standart proteinler applike edildi. 2 numaralı jel çukuruna kontrol grubu numunesi, 3 numaralı jel çukuruna 0.1 ppm dozda bakır sülfat verilen *Cyprinus carpio* numunesi, 4 numaralı jel çukuruna, 0.3 ppm dozda bakır sülfat verilen *Cyprinus carpio* serum numuneleri uygulandı. Standart olarak molekül ağırlıkları farklı olan 4 protein kullanıldı. Bunlar; gliseraldehit-3-fosfat (36 kD), tripsinojen (18 kD), yumurta albumini (45 kD), sığır albumini (66 kD) ' dir. Bu standart proteinlerin her birinden 1' er mg alındı ve 1 ml dH<sub>2</sub>O' da 1 mg/ml' lik standart hazırlandı. 1mg/ml standarttan 200 µl alınıp 200 µl dH<sub>2</sub>O ile sulandırıldı. Böylece son protein konsantrasyon 0.5µg/µl oldu. Daha sonra sample tamponla 1/2 oranında sulandırıldı. Jele bu standart proteinlerin her birinden 5 µg uygulandı.

Daha sonra total protein konsantrasyonu bilinen serum numuneleri total proteinlerinin g/dl cinsinden miktarlarına göre sulandırılması işlemine geçildi. *Cyprinus carpio*' dan alınan serum numuneleri sulandırılarak son protein konsantrasyonları 4 µg/µl' e ayarlandı.

En sonunda her bir numune tüpünden 200 µl serum alındı ve her birinin üzerine 200 µl sample tampon ilave edilerek son protein konsantrasyonu 2µg/µl' ye ayarlanmış oldu.



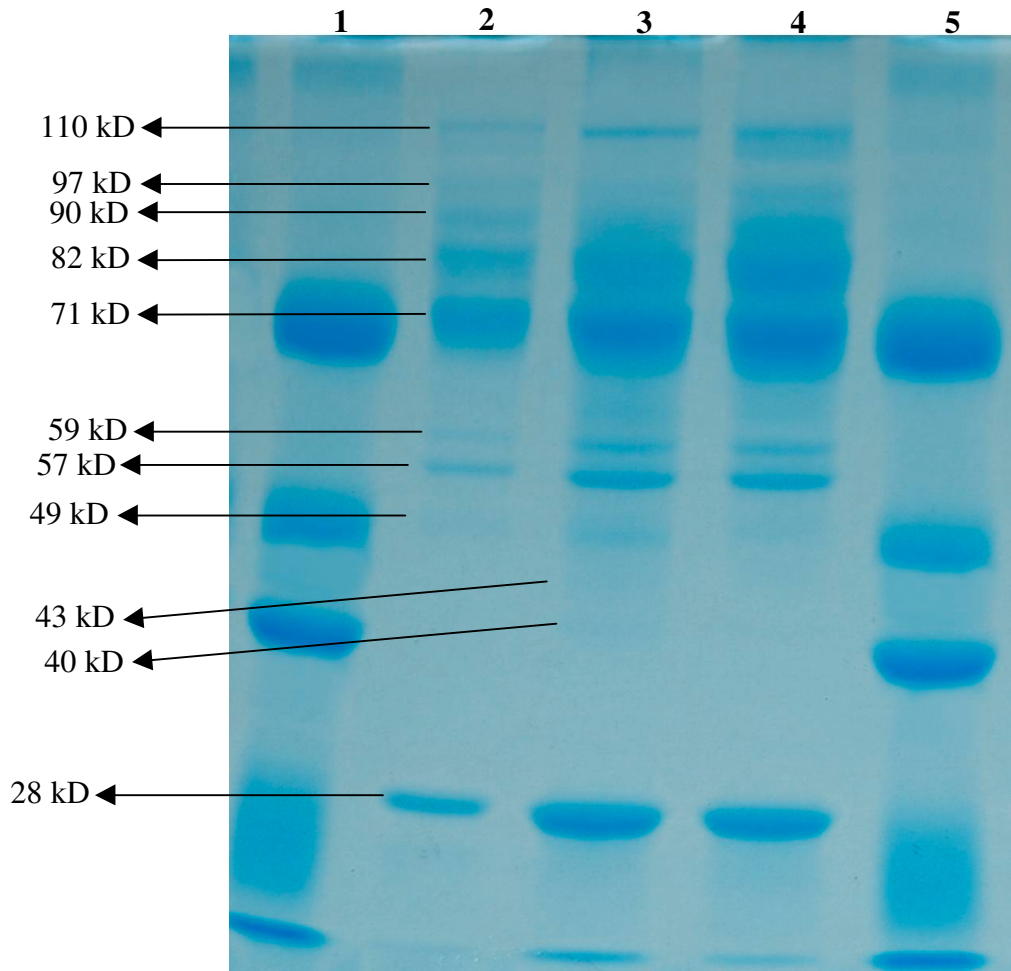
Hazırlanan serum numuneleri bir beher içerisine bir miktar su konularak 100°C' de 3 dk süreyle kaynatıldı. Numune tamponundaki 2-merkaptolan proteinlerdeki disülfid bağlarını açar ve denatüre olmalarını sağlar. Böylece serum proteinleri tek polipeptidler haline gelmiş olur. Her jel çukuruna 20' şer µl numune uygulandı. Böylece 40 µg protein jele yüklenmiş oldu. Numuneler plaktaki yerlerine uygulandıktan sonra proteinler 200 V ve 30 mA' de yürütüldü.

Elektroforez de proteinleri yürütme işlemine yaklaşık 2,5 saat devam edildi. Sürenin sonunda jel tanktan alınarak boyama solüsyonda boyama işlemine geçildi. Bu arada plak üzerindeki stoklama jeli kesilerek atıldı. Jeli içinde 250 ml boyama solüsyonu olan bir kaba bırakıldı. Jel, 56-60°C' ye ayarlanmış su banyosunda 20-30 dk inkübe edildi. Bu esnada kap içindeki boya çözeltisi hafifçe çalkalanarak jelin daha çabuk boyanması sağlandı.

Bu işlem tamamlandıktan sonra her jel, boyadan çıkarma işlemi için %5 metanol ve %7,5 asetik asit bulunan bir kaba alınarak protein bantları dışındaki jel kısımlarının şeffaflaşması sağlandı. Bu işlem, jellerin su banyosunda 55-60°C' de 60-70 dk bekletilmek suretiyle yapıldı. Bu esnada jeller hafifçe çalkalandı. Ancak, boyadan çıkarma işlemi esnasında boyadan çıkarma çözeltisi bir kaç defa yenilendi. Bu işlemlerden sonra jeller %7' lik asetik asit içinde muhafaza edildi. Sonra jellerin fotoğrafları çekildi. Proteinlerin moleküler ağırlığı Weber ve ark.' larının metoduna göre hesaplandı [32].

#### 4. BULGULAR

Çıldır gölünden yakalanan *Cyprinus carpio*'lara farklı dozlarda bakır sülfat uygulamasından sonra deneklerden elde edilen serum numunelerinin SDS-PAGE' den elde edilen elektroforegramda II. ve III. gruptaki balıkların serum protein bantlarında I. gruba göre kalınlaşmalar olduğu, bununla birlikte II. grupta 40 ve 43 kD' luk, III. grupta da 40 kD' luk proteinlerin sentezlendiği tespit edildi.



**Şekil 4.1:** Bakır sülfat'a maruz bırakılan *Cyprinus carpio*' nun SDS-PAGE yöntemiyle elde edilen serum proteinlerinin elektroforegramı. 1-5 standart proteinler, 2. kontrol grubu, 3. 0.1 ppm uygulanan balıkların serum proteinleri, 4. 0.3 ppm uygulanan balıkların serum proteinleri.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ağır metal deneylerinin çoğu, balık çiftliklerinde balık yetiştiriciliğine başlanmasından sonra yapılmıştır. O zamandan beri bu balıkların biyokimyasal indeksleri ve farklı fizyolojileri iyi bir şekilde araştırılmıştır [33]. Yapılan literatürler ışığında, balıkların kan indekslerindeki değişikliklere ağır metal ve karışımların etkili olduğu görülmüştür. Literatür çalışmaları bize, hem sudaki ağır metallerin hem de maruz kalma süresinin balığın hemostasisinde geri dönülmez ve düzensiz değişikliklere neden olabileceğini göstermiştir [34]. Bu çalışmalara örnek olarak şunlar verilebilir.

Asztaloz ve ark. (1990) pestisitlerin cyprinidae' lere toksik etkilerini araştırmışlar ve bakır sülfat (CuSO<sub>4</sub>), paraquat (PQ) ve methidation (MD) gibi pestisitler adi sazanlarda doku yaralanmaları ve strese yol açarak, laktat dehidrogenaz (LDH), glutamik oksaloasetik transaminaz (GOT) ve glutamit dehidrogenaz enzim aktiviteleri ile kan şekeri miktarını yükseltmektedirler. Bakır sülfat, paraquat ve methidathion ile birlikte verildiğinde doku yaralanmaları ve stres etkileri üzerine sinerjetik etki yapmaktadır. Bakır sülfat ve methidathion kombinasyonunun ise karaciğer hücrelerinde odakal hücre nekrozuna sebep olduğunu, mitokondri ve golgi cisimciğinde de değişikliklere yol açtığını belirtmektedirler [35].

Dutta ve ark. (1983). *Lepomis macrochirus* üzerine metil civanın serum proteinleri üzerine etkilerini araştırmış ve 24, 48, 72 saatlik maruz kalmada, kontrol grubunda 28 protein bandı gözlenirken, metil civaya maruz kalan balıklarda 24 saatlik uygulamada 22, 48 saatlik uygulamada 51 ve 72 saatlik uygulamada 27 serum protein bandı olduğunu bildirmiştir [36].

Kumar ve ark. (1986) malathion toksisitesinin *Brachydanio rerio* (Cyprinidae) karaciğeri üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında karaciğer dokusunda protein, DNA ve RNA düzeyinin düştüğünü ve bunun malathionun primer DNA ve RNA polimeraz enzim sentezinin inhibisyonu sonucu olabileceğini belirtmişlerdir [37].

Sağlam ve ark. (2003) değişik yoğunluktaki bakır sülfat (CuSO<sub>4</sub>) solusyonunda bırakılan Gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) yapılan makroskobik ve mikroskobik incelemeler sonucunda makroskobik olarak balıkların operkulum ve

yüzgeç uçları ile solungaç filamentlerinde  $\text{CuSO}_4$  kristallerinin olduğu, solungaç lamellalarının birbirine yapıştığı ve vücut yüzeyinden aşırı mukus salgılandığı, mikroskobik olarak ise solungaç lamellalarında pılar ve epitel hücrelerde dejenerasyon, vakuoler dejenerasyon ve damarlarda hiperemi ile hemoraji tespit edilmiştir [38]. Schjolden ve ark. (2007) bakırın *Carassius carassius* üzerine toksik etkili olduğunu fakat diğer balık türlerine göre daha toleranslı olduğunu göstermişler. Bakırın solungaç yapısına, iyon regülasyonuna ve solunum üstüne etkili olduğunu saptamışlar. *Carassius carassius*' un bakıra oldukça toleranslı olması, hipoksiyaya ve düşük plazma ozmolalitesine uygun kabiliyetini gösterdiğini ileri sürmüşlerdir [39].

Karan ve ark., bakır sülfatın *Cyprinus carpio* türü balıklarda enzim aktivitesi ve solungaç histolojisi üzerine etkisini araştırmışlar ve 14 gün boyunca 5 farklı konsantrasyonda Bakır sülfat verilen balıkların 14. günde alkalın fosfataz (ALP), aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT)' ın kan serumu ve solungaçlarda enzim aktivitelerinin arttığı, bu süre sonunda ise balık stresinin azalmasına bağlı olarak enzim aktivitelerinin düştüğünü belirlemişlerdir [40].

Richmonds ve Dutta (1992) *Lepomis macrochirus*'u malathiona maruz bırakmışlar ve serum proteinleri üzerine elektroforetik etkilerini incelemişlerdir. Globulin bantlarında önemli bir artış ve albumin bantlarında önemli bir azalma olduğunu gözlemişlerdir [41]. Bir başka araştırmada, *Channa punctatus*' da serum proteinleri endosülfan uygulanması ile artmış, daha sonra pestisit artan miktarı ve etkide kalma süresine bağlı olarak azalmıştır. Serum protein düzeyinde gözlenen başlangıçtaki artışın, pestisit etkisiyle su kaybının neden olduğu hemokonsantrasyonun artması sonucu olduğu, daha sonraki azalışın ise böbrek ve karaciğer dokularının zarar görmesi ve protein sentezinin azalması sonucu olduğu şeklinde yorumlanmıştır [42]. Koç ve ark. (2008) Bakır (II) sülfat'ın ergin farelerin (*Mus musculus* var. *Albinos*) karaciğer proteinleri üzerine etkisini araştırmışlar ve 2 mg/kg doz uygulanan gruptaki farelerin protein bantlarında kontrol grubu hayvanların protein bantlarına nazaran incelmeler, 6 mg/kg doz uygulanan grupta ise genelde kalınlaşmalar görüldüğünü bildirmişlerdir. [43]. Yılmaz ve ark. (2007) Kobalt parahidroksibenzoat' ın *Capoeta capoeta capoeta*' nin serum proteinleri üzerine etkisini araştırmışlar ve Kobalt parahidroksibenzoatın doz artışına bağlı olarak yüksek molekül ağırlıklı protein bantlarında kalınlaşmalar, küçük molekül

ağırlıklı protein bantlarında ise incelmeler oluştuğunu belirtmişlerdir [44]. Yapmış olduğumuz araştırmada da mevcut çalışmalarla uyumlu olarak deney grubu balıkların protein bantlarında kontrol grubuna göre kalınlaşmalar olduğu tespit edilmiştir. Yine Shakoori ve ark. (1992) Çeşitli toksikantların serum proteinleri üzerine etkileri incelemişler ve albumin bantlarında koyulaşma, globulin bantlarında yayılma ve yeni globulin bantlarının oluştuğunu belirtmişlerdir [45]. Yaptığımız bu araştırmada ise bakır sülfat toksikasyonuna karşı protein sentezinin artmış olduğu ve yeni proteinlerin sentezlenmeye başladığı, 0,1 ppm bakır sülfat uygulanan gruptaki balıklarda 40 kD ve 43 kD' luk, 0,3 ppm bakır sülfat uygulanan gruptaki balıklarda da 40 kD' luk protein bantları oluştuğu saptanmıştır. Yüksek doz uygulanan grupta sonradan oluşan bant sayısının düşük doz grubuna göre az olmasının sebebinin doz artışına bağlı olarak böbrek ve karaciğer dokularının zarar görmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Isı stresi uygulanan HeLa hücre kültüründe 40 kD' luk protein sentezinin olduğu ortaya çıkarılmıştır [46], bunun yanı sıra, 40 kD ağırlığındaki proteinlerin immun sistemle ilgili proteinler olduğu ileri sürülmektedir [47]. Bu bilgilerin ışığında, bakır sülfatın 0.1 ppm ve 0.3 ppm dozlarda toksik etki yaptığı ve 40 kD ve 43 kD' luk protein bantlarının oluşmasının da toksikasyon stresi ve immun sistemin uyarılmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

- [1] Şanlı, Y. vd. 1990. “Buldan Barajı Suyunun Doğal Kalitesi ve Buradan Avlanan Sazan Balığı Örneklerinde Bazı Ağır Metal Artıkları Üzerine Araştırmalar”, AÜ Vet. Fak. Derg., Sayı:37:56-73.
- [2] Mikac, N., Picer, M., 1995. “Mercury Distribution in a Polluted Marine Area, Concentration of Methyl Mercury in Sediments and Some Marine Organisms” ,Sci. Of The Total Environ., 43 (1): 27-39.
- [3] Merlini, M., 1988. “Some Considerations on Heavy Metals in Marine” Hyd & Bios. Thal. Jugoslavica, 16 (2-4): 367-376.
- [4] <http://www.suvakfi.org.tr/>(18.03.2008).
- [5] C. M. Cooper, “Biological Effects of Agriculturally Derived Surface Water Pollutant on Aquatic Systems”, J. Environmental Quality, 22, 3, 402-408,1993.
- [6] K. Gopal and S. P. “Pathak, Possible Canses of Outbreakers of Fish Diseases and Mortality in Polluted Water” Journal of Advances Zoology, 14, 53-60, 1993.
- [7] Almedia, J., A., Noveli, E., L., B., Dal Paı Silva, M., Alves Junior, R., 2001. “Environmental Cadmium Exposure and Metabolic Responses of The Nile Tilapia, Oreochromis Niloticus” Environmental Pollution.114:169-175.
- [8] Uzunođlu, O., 1999. “Gediz Nehrinden Alınan Su ve Sediment Örneklerinde Bazı Ağır Metal Konsantrasyonlarının Belirlenmesi” Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Manisa.
- [9] Özdemir, H., 1981. “Genel Anorganik ve Kimya” Matbaa Teknisyenleri Basımevi, İstanbul.
- [10] Şengül, F., 1993. “Çevre Kimyası” Dokuz Eylül Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, İzmir.
- [11] Sawyer, C., N., Mccarty, L., Parkın, G., F., 1994. “Chemistry For Environmental Engineering” Fourth Edition, McGraw-Hill Book. Co.,Singaproe.

- [12] Kargı, F., “Çevre Mühendisliğinde Biyoprosesler”, Dokuz Eylül Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Basım Ünitesi, 2. Baskı İzmir 1995.
- [13] Beyazıt, N., ve Peker, “Atık Sularda Ağır Metal Kirliliği ve Giderim Yöntemleri” In:Atlı, V., Belenli. (Eds), Kayseri 1. Atık Su Sempozyumu Bildirileri, 22-24 Haziran 1998 Kayseri, 209-215, 1998
- [14] Tunçoku. G., Tunçoku Ö., Düzel, S., 1997. “Ege Üniversitesi Tatlı Su Balıklarında Civa, Kurşun, Kadmiyum, Bakır ve Çinko Düzeyleri Üzerine Araştırmalar”. Bor. Vet. Kont. ve Araş. Ens., İzmir.
- [15] Kaya, S., Pirinçci, İ., Bilgili, A., “Çevre Bilimi ve Çevre Toksikolojisi”. Medison Yayın Serisi, Yayın no:36, 1998.
- [16] Tuncer, E. “Tarımsal İlaçların Çevre Kirliliği Üzerine Etkileri ve Alınması Gereken Önlemler” T.C. Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele ve Karantina Genel Müd. Basılmamış Seminer Notları, Sivas, 5s. 1987.
- [17] Toros, S. ve Maden, S., “Tarımsal Savaşım Yöntem ve İlaçları” Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yay. No: 1222, Ders Kitabı No: 352, s..332., 1991.
- [18] Lloyd, R., “Pollution and Freshwater Fish”, A Buckland Foundation Book, Fishing News Books, Cornwall, p. 176.,1992.
- [19] Toros, S. ve Maden, S., “Tarımsal Savaşım Yöntem ve İlaçları”. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yay. No: 1222, Ders Kitabı No: 352, s..332.,1991.
- [20] ŞANLI, Y., “Veteriner Klinik Toksikolojisi” Ankara, 2002.
- [21] Rosmarie, A. F., “Toxicity Summary for Copper. Chemical Hazard Evaluation and Communication Group”. Biomedical and Environmental Information Analysis Section, 1992.
- [22] Arda, M., Seçer, M. Sarıeyyüpoğlu, “Balık Hastalıkları”, Medisan Yayınları Serisi, No:56, Ankara, 142s., 2002.

- [23] Nutr, J.K., “Manifestations of Copper Excess”. American Society For Clinical Nutrition, 67: 1069-1073., 1998.
- [24] Kuru, M., “Omurgalı Hayvanlar”, Atatürk Üniversitesi Yayınları, Erzurum, No:646, s. 735., 1987
- [25] Geldiay, R., Balık, S., “Türkiye Tatlısu Balıkları IV Baskı”, Ege Üniv. Fen Fak. Kitaplar Serisi, No:9, İzmir,,s.520.,1988.
- [26] [http://www.tr.wikipedia.org/wiki/Sazan\(02.06.2008\)](http://www.tr.wikipedia.org/wiki/Sazan(02.06.2008))
- [27] [http://www.kars.bel.tr/kars\(02.06.2008\)](http://www.kars.bel.tr/kars(02.06.2008))
- [28] [http://www.ardahanemniyet.gov.tr/ilimiz/cildir.asp\(17.03.2008\)](http://www.ardahanemniyet.gov.tr/ilimiz/cildir.asp(17.03.2008)).
- [29] Robert, R., Michael, J.D., 1993., “Enzyme Assays”, Oxford University Press. Newyork: 225-332.
- [30] Laemmli, U.K., “Cleavage of Structural Proteins During the Assemble, of the Head of Bacteriophage” T4, Nature, 227,680., 1970.
- [31] O’Farrell, P.H., “High Resolution Two-Dimensional Electrophoresis of Biological Properties and Significance”. Comp. Biochem. Physiol., 88 M, 497-501., 1975.
- [32] Weber, K., Pringle, J., Osborn, M., “Measurment of Molecular Weights by Electrophoresis on SDS- Acrylamide Gel”. Meth. Enzymol., 26,3., 1972.
- [33] Vosyliene, M.Z., “The Effect of Heavy Metals on Haematological Indices of Fish (Survey)”. Acta Zoologica. Hydrobiologia. Vol. 9, No.2. 76-82 1999.
- [34] Lebedeva, N.E., V.Z. Vosyliene, and T.V. Golovkina., “Haematological-Biochemical Responses of Fish to Biogenous and Anthropogenic Chemical Stimuli” Ichthyohaematology. Proceedings of the 4th Ichthyohaematological Conference, Hluboka/ Vlt., Czech, 85-87pp., 1998.
- [35] Asztaloz et al., “The Effects of Pesticids on Some Biochemical Parameters of Carp (*Cyprinus carpio L.*)”. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 19:275-282., 1990.



- [36] Dutta, H.M. and Lall, S.B., Haghghi, A.Z., “Methyl Mercury Induced Changes in the Serum Proteins of Bluegills – *Lepomis macrochirus* (Teleostei)”, Ohio J. Sci., 83 (3): 119-122. 1983.
- [37] Kumar, K., and Ansari, B.A., “Malathion Toxicity: Effect on the Liver of the Fish *Brachydanio rerio* (Cyprinidae)”, Exotoxicology and Environmental Safety, 12, 199-205, 1986.
- [38] Sağlam vd. 2003. “Değişik Yoğunluktaki Bakır Sülfat (CuSO<sub>4</sub>) Solusyonunda Bırakılan Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Makroskobik ve Mikroskobik İncelemeler”, F.Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 15(1), 89-97.
- [39] Schjolden et al., “The Toxicity of Copper to Crucian carp (*Carassius carassius*) in soft water”, Science of the Total Environment 384 (2007) 239-251.
- [40] Karan, V., et al., “Functional Enzymes Activity and Gill Histology of Carp After Copper Sulfate Exposure and Recovery”, Ecotoxicology and Environmental Safety 40, 49-55, 1998.
- [41] Richmonds, C.R., and Dutta, H.M., “Variations Produced by Malathion on the Serum Protein Fractions of Bluegill Sunfish *Lepomis macrochirus*”, Comp. Biochem. Physiol., 102 (3): 403-406. 1992.
- [42] Abidi, R., “Endosülfan Induced Changes in the Total Serum Proteins of *Channa punctatus*”, Biol. Physiol. Animal., Univ. Sao Paula 14, 41-48, 1990.
- [43] Koç, E., Ersan, Y., Yılmaz, M., Necefoğlu, H., Özen, H., Karaman, M., Çiftçi, Ü., Bayazıt, C., Çelebi, K. (2008). “Bakır (II) Sülfat’ın Ergin Farelerin (*Mus musculus* var. *Albinos*) Karaciğer Histopatolojisi ve Proteinleri Üzerine Etkisi”. Uluslar arası Katılımlı IX. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, Adana, s.68. 20-23 Mayıs.
- [44] Yılmaz, M., Ersan, Y., Karaman, M., Özen, H., Koç, E., Necefoğlu, H. (2008). “Toxic Effects of Cobalt Parahydroxybenzoate on Tissue Histopathology and Serum Proteins in *Capoeta capoeta capoeta*”, Fresenius Environmental Bulletin. (17):7, Germany (Baskıda).

- [45] Shakoori, A.R., et al., "Toxicity of Sublethal Doses of Trebon (ethofenprox) on Total Blood Serum Proteins, Acetylcholinesterase Activity and PAGE Pattern of Blood Serum Proteins of *Cirrhinus mrigala*" .Pak-J-Zool. 24 (3): 235-241., 1992.
- [46] Hattori, H., et al., "A stress-inducible 40 kDa protein (hsp40): purification by modified two-dimensional gel electrophoresis and co-localization with hsc70(p73) in heat-shocked Hela cells". Journal of Cell Science 104, 629-638., 1993.
- [47] Lin, Y., et al., " Expression of an interleukin-6-interleukin-2 fusion protein (pIL-6-IL-2) in *P. Pastoris*" Eur. Cytokine Netw., 15, 3, 240-246., 2004.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı:Dicle TANRIKULU

Doğum Yeri:ANKARA

Doğum Tarihi:19.07.1983

Medeni Hali:Evli

Yabancı Dili:İngilizce

Eğitim Durumu(Kurum ve Yıl)

Lise : TED Ankara Koleji

Lisans : Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans: Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Hidrobiyoloji Anabilimdalı

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl: Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü 2005-06

Yayımları(SCI ve diğer): Yılmaz M., İldeş E., Tanrikulu D., Koç E. (2006). Kars Çayı'nda Yaşayan *Orthrias angorae bureschi* ve *Orthrias panthera*'nın Sarkoplazmik Proteinlerinin Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforeziyle Taksonomik Yönden İncelenmesi. Ulusal Biyoloji Kongresi, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, s.262. 26-30 Haziran.