

# KURŞUNUN *CYPRINUS CARPIO* KAS DOKUSUNDA İYON PARAMETRELERİNE ETKİSİ

**Hikmet Yeter COĞUN\*, Ferit KARGIN\*\***

\*Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, KİLİS, TÜRKİYE

\*\*Çukurova Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ADANA, TÜRKİYE

Sorumlu yazar (Corresponding author): [hcogun@kilis.edu.tr](mailto:hcogun@kilis.edu.tr)

## Özet

Bu araştırmada, *C. carpio*'nun kas dokusunda kurşun (Pb) etkisinde iyon parametrelerdeki ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  ve  $\text{Mg}^{++}$ ) değişimleri Atomik Absorbsiyon Spektrometrik yöntemle belirlenmiştir.

Araştırmada kurşunun 0.1 ve 1.0 mg/L derişimleri 10 ve 20 günlük sürelerde, *C. carpio* kas dokusundaki metal etkisinde kas dokusundaki iyon parametreler ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  ve  $\text{Mg}^{++}$ ) incelenmiştir. Yapılan çalışmada *C. carpio* kas dokusunda kurşun her iki derişimde de etki kalma süresinin uzamasıyla arttığı saptanmıştır.

*C. carpio* balıkların kas dokusunda kurşun etkisinde iyon değerleri incelendiğinde, sodyum ve potasyum iyonlarında her iki derişimde ve etkide kalınan süreye bağlı olarak azalmaya, kalsiyum ve magnezyum düzeylerinde ise bir artmaya neden olmuştur.

Sodyum ve potasyum iyonlarındaki azalma her iki süre sonunda kontrol grubuna göre yaklaşık %33 ve %93 oranlarında olmuştur. Kalsiyum iyon düzeyi kontrol balıkları ile karşılaştırıldığında 10. günde yaklaşık 4 katlık bir artış, 20. günde ise bu artış yaklaşık 10 kat kadar olduğu gözlenmiştir. Magnezyum iyonunda her iki sürede de artma olmuştur, fakat bu artış her iki sürenin 0.1 mg L<sup>-1</sup> Pb derişiminde kontrol grubuna göre istatistiksel bir ayrıma neden olmazken, 20. günde ise tüm derişimlerde %30 bir artış olarak istatistiksel bir ayrıma neden olmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** *Cyprinus carpio*, kurşun, birikim, iyon, kas dokusu

## THE EFFECT OF LEAD ON ION PARAMETERS OF MUSCLE TISSUES IN *CYPRINUS CARPIO*

### Abstract

In this study, *C. carpio* muscle tissue, lead (Pb) ion influenced by parameters ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  and  $\text{Mg}^{++}$ ) changes determined atomic absorption spectrometric method.

In the research 0.1 and 1.0 mg/L lead concentrations of 10 and 20 day periods, *C. carpio* muscle tissue, ion parameters ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  and  $\text{Mg}^{++}$ ) were investigated.

In this study, *C. carpio* muscle tissue concentrations of lead in both effect extension of period exposure was increased.

*C. carpio* fish muscle tissue effect of the lead ion levels are examined, in both concentrations of sodium and potassium ions and time dependent decrease in impact impulse has caused an increased calcium and magnesium levels.

Decreased sodium and potassium ions at the end of in both period of time than the control group was approximately 33% and 93% percent. Calcium ion levels compared with control fish increase approximately 4 fold in 10 days, this increase was observed to be approximately 10 fold in 20 days. Magnesium ions has been to increase in both the time, but in both time increase compared with control group concentration of 0.1 mg L<sup>-1</sup> of Pb while there was no statistically significant result in separation of the in 20 days as an increase in the all concentration of 30% has caused a statistical separation.

**Keywords:** *Cyprinus carpio*, lead, accumulation, ion, the muscle tissue

## Giriş

Ağır metaller çevreye verdikleri zararlara ek olarak sucul organizmalar tarafından biriktirmelerinden dolayı sucul ekosistemlerin ciddi kirleticileri olarak bilinmektedirler. Ağır metallerin organizmalara toksik etkileri, ya enzimin aktif bölgesinde yararlı bir metalle yer değiştirerek veya molekül üzerinde aktif olmayan bölgeye bağlanarak yaptıkları saptanmıştır (Murphy ve Spiegel, 1983; Viarengo, 1985).

Kurşun periyodik tabloda IV A gurubunda yer alan bir metaldir. Organizmalarda herhangi bir biyolojik işlevi bulunmayan kurşun dünyanın kabuğunda, kayalarda, toprakta ve suda doğal olarak bulunmaktadır. Kurşun balıklarda büyüme ve erirositlerde hem sentezinde görev alan  $\delta$  aminolevulinik asit dehidrataz enzimi (Burden ve ark., 1998), lipid peroksidasyon enzimi (Campana ve ark., 2003), anemi rahatsızlığı ve ALAD (Delta aminolevulinik asid dehidrataz) enziminin (Ruparelia ve ark., 1989) inhibüsyonuna neden olduğu belirtilmiştir.

Sucul organizmalarda ağır metallerin subletal etkilerinin hızlı ve doğru bir şekilde belirlenebilmesi için balıkların, bu metallere karşı fizyolojik ve biyokimyasal tepkilerinin araştırılması gerekmektedir (Campana ve ark., 2003).

Canlı organizmalarda iyonlar, protein ve lipit gibi birçok birleşiklerin yapılarında bulunurlar, enzimatik reaksiyonlarda kofaktör olarak görev alırlar ve asit-baz dengesini sağlarlar. İyonlar, organizmada sadece osmotik dengenin korunmasında değil, aynı zamanda besinlerin barsak hücrelerine taşınmasında ve beyinde nörotransmitterlerin alınımında da önemli görevler yaparlar (Suresh ve ark., 1995). Tatlı su ortamlarında yaşayan balıklarda osmotik dengenin sürdürülebilmesi için Na ve Cl iyonlarının alınması gereklidir (Hongstrand ve ark.,1999).

Ağır metaller hücre zarının geçirgenliğini değiştirmesi, birçok enzimatik reaksiyonda değişikliklere neden olması ve yaşamsal öneme sahip inorganik katyonların düzeylerini değiştirmesiyle iyon dengesini bozmaktadır (Viarengo, 1985; Suresh ve ark., 1995).

Bu çalışma; 10 ve 20 günlük sürelerle kurşunun farklı derişimlerine bırakılan *Cyprinus carpio*' nun kas dokusunda iyon düzeyleri üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Materyal ve Metot**

Bu araştırmada kullanılan *C. carpio*'lar Devlet Su İşleri (DSİ) yetiştirme havuzlarından alınmış ve iki ay süre ile 40X120X40 cm boyutlarındaki on stok akvaryum içerisinde laboratuvar koşullarına adaptasyonları sağlanmıştır. Balıklar bu sürenin sonunda  $14.72 \pm 0.44$  cm boy ve  $37.87 \pm 1.19$  g ağırlığa ulaşmışlardır.

Deneyle 20  $\pm 1$  °C sıcaklıkta yürütölmüş, akvaryumlar merkezi havalandırma sistemi ile havalandırılmış ve günde sekiz saat aydınlanma (8 saat gündüz / 16 saat gece) periyodu uygulanmıştır. Balıklar, günde iki kez olmak üzere balık ağırlılığının % 1'i kadar hazır balık yemi (Pınar Balık Yemi, Türkiye) ile beslenmişlerdir.

Deneyle 10 ve 20 gün sürelerde kurşunun 0.1 ve 1.0 mg/L ortam deşişimlerine bırakılmıştır. Deneyle 40X120X40 cm. boyutlarında olan içersinde 12 balık bulunan 3 cam akvaryum kullanılmıştır. Bu akvaryumlardan ikisine 120'şer litre 0.1 ve 1.0 mg/L kurşun çözeltileri, üçüncüsüne ise kontrol balıkları konulmuştur. Deneyle üç tekrarlı olarak yürütölmüştür ve her tekrarda iki balık kullanılmıştır.

Deney ortamında metalin deşişiminin zamana bağlı değişimler olabileceği için deney boyunca akvaryum suları ve metallerin deşişimleri iki günde bir değiştirilmıştir. Kullanılan kurşun PbCl<sub>2</sub> (Merck) olup deney boyunca çözeltilinin akvaryumda homojen dağılması ve çökelmeyi önlemek için tri-sodyum sitratla (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>7</sub>. 2H<sub>2</sub>O Merck ) birlikte çözeltiler de iyonize su ile taze hazırlanmıştır. Bu hazırlanan çözeltiliden uygun deşişimler uygun seyreltmelerle akvaryumlara uygulanmıştır.

Her deney süresi bitiminde balıklar alınmış ve daha sonra çeşme suyu ile iyice yıkanmış ve kurutma kâğıdı ile yüzeylerinde bulunan su damlacıkları alınmıştır. Balıkların kas dokularının diseksiyonu yapılmıştır. Daha sonra kas dokusu etüvde 150°C 'de 48 saat süreyle kurumaya bırakılmışlardır. Kuru ağırlıkları belirlenen kas dokusu deney tüplerine aktarılarak üzerlerine 2 mL. nitrik asit (Merck, % 65, Ö. A. : 1.40) ve 1 mL. perklorik asit (Merck, % 60, Ö. A. :1.53) eklenmiş (Muramoto, 1983) ve çeker ocakta 120°C' de 3 saat süreyle yakılmıştır. Yakımı tamamlanan örnekler polietilen tüplere aktarılmış ve üzerleri deiyonize su ile 5 mL.' ye tamamlanarak iyon analizine hazır hale getirilmıştir. Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>+</sup> ve Ca<sup>+</sup> iyon düzeyleri kas dokusu kuru ağırlılığına bağlı olarak bu örneklerden uygun seyreltmeler yapıldıktan sonra belirlenmiştir.

Kas dokusundaki iyon analizleri Perkin Elmer AS 3100 Atomik Absorbsiyon Spektrofotometrik yöntemlerle saptanmıştır.

Deneylerden elde edilen verilerin istatistik analizleri “ Regresyon analizi” ve “ Student-Newman Keul’s Test (SNK)” testleri uygulanarak yapılmıştır.

### Bulgular

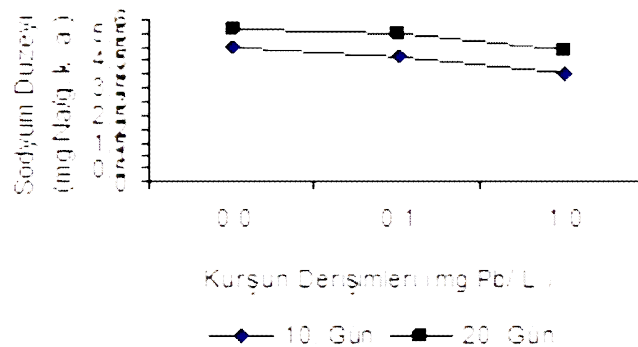
Kurşunun etkisindeki *C. carpio* balık türü kas dokusunda Na, K, Ca ve Mg iyon düzeyleri Şekil 1-4’de verilmiştir.

*C. carpio*’da kurşunun etkisinde kas dokusunun sodyum düzeyinde 10. ve 20. günlük sürelerde ve düşük ortam derişimlerde kontrole göre bir düşme gözlenirken, yüksek derişimlerde her iki günlük sürelerde ise herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir (SNK,  $P<0.01$ ) (Şekil 1).

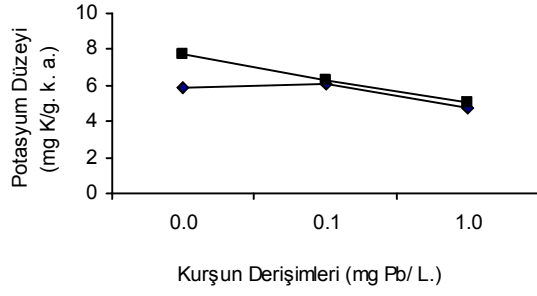
Kas dokusu potasyum düzeyi 20 günde 1.0 mgPb/L ortam derişiminde azalma daha fazla olduğu saptanmış, 10. günde ise değişiklik olmamıştır (SNK,  $P<0.01$ ) (Şekil 2).

Kurşun etkisinde kas dokusu kalsiyum düzeyi hem 10. günde hem de 20. günde 1.0 mg Pb/L ortam derişimlerinde kontrole göre artmıştır (SNK,  $P<0.01$ ) (Şekil 3).

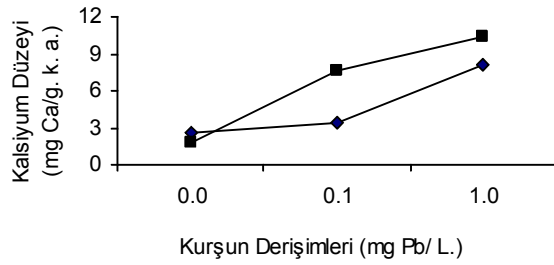
Kas dokusu magnezyum düzeyleri her iki sürede de düşük derişimler hariç kontrole göre arttığı saptanmıştır. 20. günde ortam derişimlerinde magnezyum düzeyindeki artış yaklaşık 1.5 katı kadar olmuştur (SNK,  $P<0.01$ ) (Şekil 4).



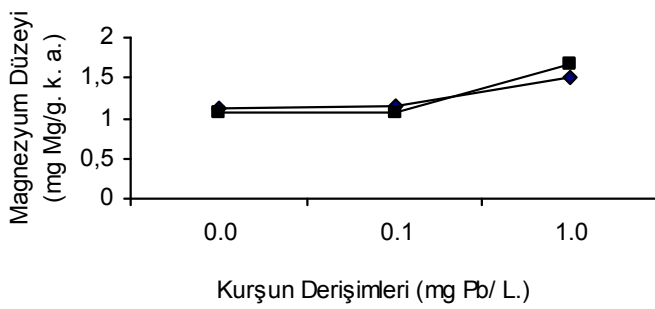
Şekil 1. *C. carpio*’da kurşun derişimi etkisinde kas dokusunda sodyum düzeyleri (mg Na/g k. a.).



Şekil 2. *C. carpio*'da kurşun derişimi etkisinde kas dokusunda potasyum düzeyleri (mg K/g k. a.).



Şekil 3. *C. carpio*'da kurşun derişimi etkisinde kas dokusunda kalsiyum düzeyleri (mg Ca/g k. a.).



Şekil 4. *C. carpio*'da kurşun derişimi etkisinde kas dokusunda magnezyum düzeyleri (mg Ca/g k. a.).

## Tartışma

Genelde ağır metaller organizmalar tarafından solunum, besin ve direkt temas yoluyla alınmaktadır. Araştırmamızda balıklar kurşunu büyük bir olasılıkla deri ve solungaçlar yoluyla aldıkları düşünülmektedir.

Balıklarda solunum için suyun alınması ve solungaç yüzey alanının yüksek permeabilite göstermesi nedeniyle metallerin yüksek düzeyde vücuda alınmasını kolaylaştırmaktadır. Balıklarda vücuda giren metaller ya proteinlere bağlanırlar ki bu durumda inaktif halde bulunurlar veya bağlanmazlar yani serbest veya aktif halde bulunurlar (Campana ve ark., 2003).

Balıklarda fizyolojik olayların tam olarak yapılabilmesi ve canlılığın sürdürülebilmesi için hücre içi ve hücre dışı arasında iyon derişimindeki dengenin sürekli olarak korunması gerekmektedir. Bunu sağlamak için çeşitli sistemler geliştirilmiştir. Örneğin Na,K-ATPaz sistemi hücre içinde potasyumun, hücre dışında da sodyumun yüksek derişimlerde tutulmasını (Satyavath ve Rao, 2000), Na,K-ATPaz ile Ca-Mg ATPaz sistemi solungaçlarda ilgili iyonların aktif taşınmalarını (Sloman ve ark., 2003; Roger ve ark., 2003), karbonik anhidraz enzimi Na ve Ca iyonlarının taşınmalarını (McGeer ve ark., 2000) sağlayarak iyon dengesinin korunmasında büyük önem taşırlar.

Balıklarda kurşun  $Ca^{++}$ -ATPaz'ın taşıma görevini engellemesi nedeni ile kas dokusunda  $Ca^{++}$  düzeyinde değişikliklerin oluşmasına neden olmaktadır (Roger ve ark., 2003). Araştırmamızda kas dokusunda  $Ca^{++}$  düzeyinde değişikliklerin saptanması, kurşunun solungaç dokusunda  $Ca^{++}$  taşınmasını engellemesinden kaynaklanabilir.

Kurşun ortam derişimleri *C. carpio*'nun kas dokusu  $Mg^{++}$  düzeyini derişime ve etkide kalma süresine bağlı olarak arttırmıştır. Magnezyum canlılar için gerekli bir mineral olup, kemik dokusundaki işlevine ek olarak, karbonhidrat metabolizması ve protein sentezi gibi fizyolojik işlevlerde önemli görevleri bulunan bir iyondur (Flik ve ark., 1993).  $Mg^{++}$  solungaç apikal membranlarında pasif bir şekilde taşındığı belirlenmiştir.  $Mg^{++}$  iyon derişimi hücresel düzeyde membranda bulunan  $Mg^{++}$ -ATPaz tarafından kontrol edilmekte ve ağır metallerin  $Mg^{++}$ -ATPaz'ı inhibe etmesi sonucu  $Mg^{++}$  düzeyi değişebilmektedir (Thaker ve ark., 1996).

Bu çalışmada elde edilen bulgular, *C. carpio*'nun kas dokusu kurşun gibi toksik maddelerin etkisinde kas dokusunda iyonların regülasyonu ile osmoregülasyonun da değiştirdiğini göstermektedir.

**Kaynaklar**

- Blevins, R. D. And Pancorbo, O. C., 1986. Metal concentrations in muscle of fish from aquatic systems in east tennessee, U. S. A. *Water, Air and Soil Pollution.*, 29: 361-371.
- Burden, V. M., Sandheinrich, M. B. And Caldwell, C. A., 1998. Effects of lead on the growth - aminolevulinic acid dehydratase activity of juvenile rainbow trout, and *Oncorhynchus mykiss*. *Environmental Pollution*, 101: 285-289.
- Campana, O., Sarasquete, C. And Blasco, J., 2003. Effect of lead on ALA-D activity, metallothionein levels, and lipid peroxidation in blood, kidney, and liver of the toadfish *halobatrachus didactylus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 55: 116-125.
- Flik, G., Van Der Velden, J. A., Dechering, K. J., Verbost, P. M., Schoenmakers, T. J. M., Klar, Z. I. And Wendelaar Bonga, S. E., 1993.  $Ca^{2+}$  and  $Mg^{2+}$  transport in gills and gut of tilapia; *Oreochromis mossambicus*: A Review. *J. Exp. Zool.*, 265: 356-365.
- Hongstrand, C., Ferguson, E. A., Galves, F., Shaw, J. R., Webb, N. A. And Wood, C. M., 1999. Physiology of acute silver toxicity in the starry flounder (*Platichthys stellatus*) in Seawater. *J. Comp. Physiol.*, B. 169: 461-473.
- Kargin, F., 1998. Metal concentrations in tissues of the freshwater fish *Capoeta barroisi* from the Seyhan River (Turkey). *Water, Air and Soil Pollution*, 60 (5): 822-828.
- Kargin, F. And Cogun, H. Y., 1999. Metal interactions during accumulation and elimination of zinc and cadmium in tissues of the freshwater fish *Tilapia nilotica*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 63: 511-519.
- Mcgeer, J. C., Szebedinszky C., McDonald D. G. And Wood C. M., 2000. Effect of chronic sublethal exposure to waterborne Cu, Cd or Zn in rainbow trout 2: tissue specific metal accumulation. *Aquatic Toxicology*, 50: 245-256.
- Muramoto, S., 1983. Elimination of copper from Cu-contaminated fish by long-term exposure to EDTA and fresh-water. *J. Environ. Sci. Health.*, A18 (3): 455-461.
- Murphy, C. B. Jr, And Spiegel, S. J. 1983. Bioaccumulation and toxicity of heavy metals and related trace elements. *Water Pollution*, V.55, No.6, 816-821.
- Roger, J. T., Richards, J. G. And Wood, C. M., 2003. Ionoregulatory disruption as the toxic mechanism for lead in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 64(2): 215-234.
- Ruparelia, S. G., Verma, Y., Mehta, N. S. And Salyed, S. R., 1989. Lead-induced biochemical changes in freshwater fish *Oreochromis mossambicus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 43: 310-314.
- Satyavathi, C. And Rao, Y. P., 2000. Inhibition of  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPase in *Penaeus indicus* postlarvae by lead. *Comp. Biochem. Physiol.*, C. 127: 11-22.
- Sloman, K. A., Morgan, T. P., McDonald, D. G. And Wood, C. M., 2003. Socially-induced changes in sodium regulation affect the uptake of water-borne copper and silver in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Comp. Biochem. and Physiol.*, C. 135: 393-403.
- Suresh, A., Sivaramakrishna, B. And Radhakrishnaiah, K., 1995. Cadmium Induced Changes in ion levels and atpase activities in the muscle of the fry and fingerlings of the freshwater fish, *Cyprinus carpio*. *Chemosphere*, V.30 (2): 365-375.
- Thaker, J., Chhaya, J., Nuzhat, S., Mittal, R., Mansuri, A. P. And Kundu, R., 1996. Effects of chromium (VI) on some ion-dependent ATPases in gills, kidney and intestine of a coastal teleost *Periophthalmus dipsas*. *Toxicology*. 112: 237-244.
- Tulasi, S. J. Reddy, P. U. And Rao, J. V. R., 1992. Accumulation of lead and effects on total lipids and lipid derivatives in the freshwater fish *Anabas testudines*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 23: 33-38.
- Viarengo, A., 1985. Biochemical effects of trace metals. *Marine Pollution Bull.*, Vol. 16 (4): 153-158.