

Tatlısu Midyesi *Unio Terminalis*'te Bakırın 96 Saatlik LC₅₀ Değeri ile Birikim Düzeylerinin Belirlenmesi

Özcan AY* Cengiz KORKMAZ Mehmet Hüseyin AK

Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Su Ürünleri Temel Bilimleri Bölümü Mersin

*Sorumlu yazar. oay@mersin.edu.tr

Özet

Bu çalışmada tatlı su midyesi *Unio terminalis*'te eser ağır metallere bakırın 96 saatlik LC₅₀ değeri ile 96 saatlik LC₅₀ değerinin %25, %50 ve %100'ne karşılık gelen derişimlerinin 96 saat süreyle etkisinde total birikim düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Midye örneklerinin bakır analizinde ICP-MS kullanılmıştır. *U. terminalis*'te bakırın 96 saatlik LC₅₀ değeri 4.65 ppm olarak belirlenmiştir. Daha sonra midyeler 96 saat süreyle, bakırın bu derişiminin %25, %50 ve %100'ne karşılık gelen 1, 2 ve 4 ppm'lik derişimlerinin etkisinde bırakılmış ve deney süresi sonunda total birikim düzeyleri sırasıyla 56 µg Cu/g k.a., 77 µg Cu/g k.a. ve 28 µg Cu/g k.a. olarak tespit edilmiştir. İncelenen tüm derişimlerin etkisinde, birikim düzeylerinin kontrol grubuna oranla önemli düzeyde artış gösterdiği saptanmıştır. 1 ve 2 ppm'lik derişimlerin etkisindeki birikim düzeyleri, incelenen yüksek derişimin etkisindeki birikime oranla daha fazla olmuştur

Anahtar kelimeler: Bakır, LC₅₀, Birikim, *Unio terminalis*, Tatlısu Midyesi

Determination of 96 h LC₅₀ Value of Copper and Its Total Body Accumulation during the Same Period in *Unio terminalis*

Abstract

In this study, *Unio terminalis* was exposed to 25%, 50% and 100% of its 96 h LC₅₀ value of copper over 96 hours after determining the 96 h LC₅₀ value for this metal. The 96 h LC₅₀ value of copper to this species was determined as 4.65 ppm Cu and hence the species was exposed to 1.0, 2.0 and 4.0 ppm Cu for 96 hours. Tissue analysis of copper was carried out using ICP-MS techniques. Total body accumulation of copper were 56 µg Cu/g d.w., 77µg Cu/g d.w. and 28µg Cu/g d.w. for 1.0, 2.0 and 4.0 ppm Cu exposures respectively after 96 hours. Copper levels were significantly higher in animals exposed to copper compared with the control. Accumulation of copper, however, was lower at the highest Cu concentration tested compared the lower concentrations.

Key words: Copper, LC₅₀, Accumulation, *Unio terminalis*, Freshwater mussel.

GİRİŞ

Tatlı su midyeleri, sucul ekosistemlerin bentik komünitelerinde bulunan, ekolojik ve ekonomik rolü son derece yüksek canlılardır (Naimo, 1995). Bivalve grubu içinde yer alan diğer canlılardan larval gelişim evrelerinde konak olarak bir balık türüne gereksinim duymaları nedeniyle farklılık gösterirler. (Grabarkiewicz ve Davis, 2008).

Tatlı su midyelerinin sucul ekosistemlerde çok önemli rolleri bulunmaktadır. Su kütlesinde askıda bulunan katı organik ve inorganik maddeleri süzerek ortamdan uzaklaştırırlar (Grabarkiewicz ve Davis, 2008). Bunun yanı sıra, göllerdeki kalsiyum döngüsünün devamından ve biyotürbasyondan (biyolojik karıştırma) sorumludurlar (Naimo, 1995). Sesil canlı olmalarından dolayı su kütlesinde çözünmüş halde bulunan maddeler üzerine direk etki ederler ve aşağıdan yukarıya oluşabilecek potansiyel fitoplankton patlamalarını kontrol ederler (Vaughn ve ark., 2008; Allen ve Vaughn., 2011).

Yetişkin midyeler doğada uygun koşullar altında 25 cm boya ulaşabildikleri gibi oldukça uzun süre de yaşamlarını sürdürebilirler. (Cummings ve Mayer, 1992). Antartika

kıtası da dahil olmak üzere dünyada çok geniş alanlara dağılım gösterebilirler. Bu güne kadar 140 cinse ait yaklaşık 780 midye türü tanımlanmış olup, tür çeşitliliği göllerde, akarsularda ve derelerde en yüksek seviyelerdedir (Graf ve Cummings, 2007).

Türkiye’de kirliliğin tatlı su midyeleri üzerine etkileri ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır (Kara, 2004, Başçınar ve ark., 2009). Uluslararası Doğa Koruma Birliğine (IUCN, 2014) göre *U. terminalis*, Türkiye, İsrail, Ürdün, Lübnan ve Suriye’nin endemik türü olarak kabul edilmektedir. 2009 yılından itibaren popülasyonunun hızla azaldığı rapor edilmiştir (IUCN,2014).

Tatlı su midyelerinin yaşam sürelerinin uzun, lokomasyon yeteneklerinin sınırlı olması ve filtrasyon ile beslenmelerinden dolayı, sucul ekosistemlerdeki kirliliğinin incelendiği toksikolojik çalışmalarda indikatör canlı olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar (Cummings ve Mayer, 1992, Naimo, 1995, Öktener, 2004, Grabarkiewicz ve Davis, 2008). Aynı zamanda tatlı su midyelerinin ağır metal toksisitesine karşı son derece duyarlı oldukları bilinmektedir(Naimo, 1995). Bunun nedeni sucul ekosistemlere katılan birçok toksik maddenin bunun içinde ağır metallerde yer almakta öncelikli olarak süspanse parçacıklara adsorbe olarak taşınması ve daha sonra da çökerek sedimentte birikmesidir. Buda, ağır metallerin tatlı su midyeleri gibi bentik süzerek beslenen canlılar tarafından doğrudan vücuda alınarak birikmesine neden olur (Naimo, 1995).

Tatlı su midyeleri ile yapılan araştırmalarda bakırın birikim ve toksik etkisinin türe ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişim gösterdiği belirlenmiştir (Milam ve ark., 2005).

Pip (2006), Winnipeg (Manitoba, Kanada) gölünde tatlı su yumuşakçaları ile yapılan bir araştırmada tür, sayı ve çeşitliliğindeki azalmanın göldeki yüksek bakır sülfat derişimi ile ilişkili olabileceğini belirtmiştir. Wang ve ark., (2007) gelişmenin erken evresindeki *Epioblasma capsaeformis*, *Leptodea leptodon* ve *Alasmidonta heterodon* ile yapmış oldukları araştırmada *E. capsaeformis* ve *L. leptodon*’nun bakır toksisitesine karşı *A. heterodon*’a göre daha duyarlı olduklarını belirlemişlerdir.

Jacobson ve ark., (1993), juvenil *Pyganodon grandis* ve *Villosa iris*’de bakırın 24 saatlik EC₅₀ değerinin sırasıyla 0.033 ppm ve 0.027 ppm’iken, LC₅₀ değerinin sırasıyla 0,044 ppm ve 0,083 ppm olduğunu bildirmişlerdir(Grabarkiewicz ve Davis, 2008).

On bir farklı Unioid türü ile bakırın akut ve kronik toksisitesinin incelendiği araştırmada 24 saatlik EC₅₀ değerinin 0.01 ppm ile 0.1 ppm arasından değişim gösterdiği saptanmıştır (Wang ve ark., 2007).

March ve ark., (2007), akuatik orgaizmalar içerisinde *Venustaconcha ellipsiformis*, *E. capsaeformis* ve *Potamilus ohioensis*’in bakır toksisitesine karşı daha duyarlı olduklarını ve söz konusu türlerin su kalitesi ve standartlarının belirlenmesi çalışmalarında indikatör canlılar olarak kullanılabileceklerini bildirmişlerdir.

Bakırın, tatlı su midyeleri üzerine toksik etkileri ile ilgili çok sayıda araştırma bulunmasına karşın, (Jacobson ve ark.,1997, Cherry ve ark., 2002, Milam ve ark., 2005; Wang ve ark., 2007) *U. terminalis* üzerine toksik etkisine ait herhangi bir çalışmaya rastlanmadığından bu araştırmada *U. terminalis*’te bakırın 96 saatlik LC₅₀ değeri ile bu değerin %25, %50 ve %100 oranlarındaki derişimlerinin 96 saat süreyle etkisindeki birikim düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Araştırmada materyal olarak, Hatay ilinde yer alan ticari bir firmadan elde edilen 19.88 ±4.85 gr ortalama ağırlık ve 5.5± 0.7 cm ortalama boya sahip *U. terminalis*

kullanılmıştır. Deneyler Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Uygulama Biriminde yer alan, kontrollü ortam koşullarına sahip Temel Bilimler Araştırma Laboratuvarında yürütülmüştür. Laboratuara getirilen midyeler, her biri 25X50X25cm boyutlarında olan ve içerisinde 20 şer L. dinlenmiş çeşme suyu bulunan cam akvaryumlar içerisinde bir hafta süreyle bekletilerek laboratuvar koşullarına uyumları sağlanmıştır. Araştırma laboratuvarı 24 ± 1 °C durağan sıcaklığa sahip olup, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık fotoperiyodu uygulanmıştır.

96 saatlik LC₅₀ değerinin belirlenmesi

Bu amaçla her biri 25X50X25cm boyutlarında olan 6 adet cam akvaryum kullanılmıştır. Akvaryumların her birine sırasıyla 20'şer L., 0.7 ppm, 1.0 ppm, 2.0 ppm, 4.0 ppm, 8.0 ppm ve 16.0 ppm derişimlerindeki bakır çözeltileri ile 8'er adet midye konmuştur. 24, 48, 72 ve 96 saat sürelerle gözlem yapılarak bu süreler içerisinde ölen midyeler akvaryumlardan çıkartılmış ve ölümler kaydedilmiştir. Bakır çözeltilerinin hazırlanmasında 5 sulu bakır sülfat tuzu ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Merck) kullanılmıştır. Deney akvaryumlarındaki suyun bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerinden; sıcaklık 23 ± 1 °C, pH 7.10 ± 0.20 , çözülmüş oksijen 7.10 ± 0.12 ppm ve sertlik 222.16 ± 4.03 ppm CaCO_3 şeklinde belirlenmiştir. Deney çözeltilerinin derişiminde adsorbsiyon, presipitasyon ve evaporasyon gibi nedenlerle süreye bağlı olarak derişimler olabileceğinden deney çözeltileri günlük olarak deriştirilmiştir. Deney akvaryumlarında havalandırma merkezi havalandırma ile sağlanmış ve denekler deney süresince beslenmemiştir. Deney süresince elde edilen verilere SPSS 16.0 paket programı yardımı ile "probit analizi" uygulanmış ve LC₅₀ değeri hesaplanmıştır.

Birikim düzeylerinin belirlenmesi

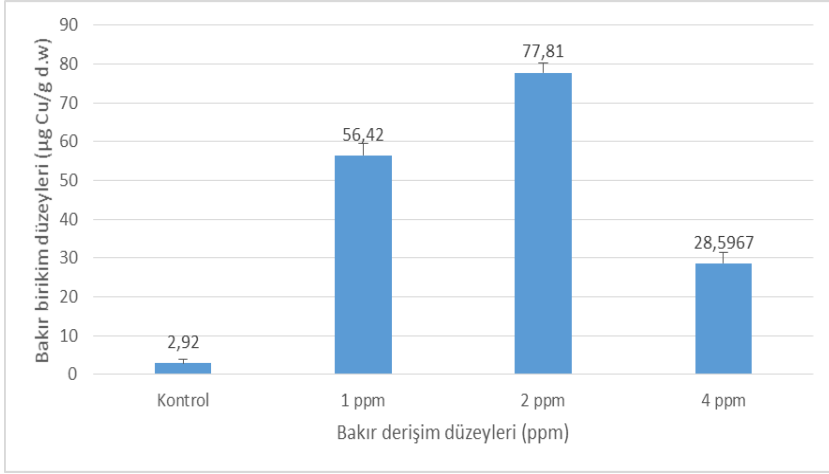
Bakırın *U. terminalis*'deki birikim düzeyi 96 saatlik LC₅₀ değerinin %25, %50 ve %100'ne karşılık gelen 1, 2 ve 4ppm'lik derişimlerinin 96 saat süreyle etkisi sonucunda belirlenmiştir. Bu amaçla her biri 25X50X25cm boyutlarında olan 4 adet cam akvaryum kullanılmıştır. Akvaryumlardan ilk üçüne bakırın 1, 2 ve 4 ppm derişimlerindeki çözeltileri konularak deney grubu oluşturulurken, dördüncü akvaryuma bakır içermeyen dinlenmiş çeşme suyu konulmuş ve kontrol grubu oluşturulmuştur. Deneyler iki tekrarlı olarak yürütülmüş ve her tekrarda akvaryumların her birine 8 adet midye konulmuştur. Belirlenen süre sonunda akvaryumlardan çıkartılan midyeler buz üzerinde bekletilerek öldürülmüş ve yumuşak doku kısımları bistüri yardımı ile kabuklarından ayrılarak petri kutularına konulmuştur. 150 °C'de 72 saat süre ile kurutularak sabit tartıma hazır hale getirilen doku örnekleri, kuru ağırlıkları belirlendikten sonra deney tüplerine aktarılmıştır. Daha sonra örneklerin her birinin üzerine 2 ml nitrik asit (HNO_3 , % 65, Ö.A.: 1.40, Merck) ve 1 ml perklorik asit (HClO_4 , % 60, Ö.A.: 1.53, Merck) karışımı eklenerek 120 °C'de 8 saat süreyle yakılmıştır. Yakma işlemi tamamlanan örnekler, kapaklı polietilen tüplere aktarılmış ve üzerlerine, 10 ml'ye tamamlanıncaya kadar deiyonize su eklenerek analize hazır hale getirilmiştir (Muramoto, 1983).

Analize hazır duruma getirilen örneklerin bakır içerikleri ICP-MS cihazı kullanılarak saptanmış ve verilerin istatistik analizi SPSS 16.00 paket programı ile varyans analizi ve "Student – Newman Keul's Test (SNK)" testleri uygulanarak yapılmıştır.

BULGULAR

U. terminalis'te bakırın 96 saatlik LC₅₀ değeri 4.65 ppm (% 95'lik güven sınırı içinde) olarak belirlenmiştir. Deney sırasında kontrol grubunda mortalite gözlenmemiştir.

U. terminalis'te bakırın belirlenen süre ve derişimlerin etkisinde total birikim düzeylerine ait verilerin aritmetik ortalamaları ile istatistik analizleri Şekil 3.1'de verilmiştir. Deneyler sırasında kontrol grubunda mortalite gözlenmezken, 1 ppm ve 2 ppm derişim etkisi altında 1'er, 4 ppm derişim etkisi ise 2 ölüm gözlenmiştir.



Şekil 3. Bakırın 96 saat süre ve belirlenen derişimlerinin etkisinde *U. terminalis*'deki Birikim Düzeyleri.

Bakırın belirlenen tüm derişimlerinin 96 saat süre etkisi sonunda *U. terminalis*'teki total metal birikimi, kontrole göre istatistiksel bakımdan önemli düzeyde artış göstermiştir ($P<0.05$). 4 ppm'lik derişimin 96 saat süreyle etkisindeki birikim düzeyinin 1 ve 2 ppm'lik derişimlerin etkisindeki birikim düzeylerine oranla önemli düzeyde düşük olduğu saptanmıştır ($P<0.05$).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Araştırmada 96 saatlik LC_{50} değerinin belirlendiği derişimlerin etkisinde tatlı su midyelerinin kapak açma/kapama, yer değiştirme gibi davranış değişimleri gözlenmiş ve süreç içerisinde ölen midyeler ortamdan alınarak kayıt edilmiştir. Yapılan probit analizi sonucunda *U. terminalis*'te bakırın 96 saatlik LC_{50} değeri 4.65 ppm olarak belirlenmiştir.

Tatlı su midyelerinin, toksik etkili kirleticilere karşı duyarlılıkları, türe, türün gelişme evresine ve çevresel faktörlere bağlı olarak farklılıklar gösterir (Grabarkiewicz ve Davis, 2008). *E. capsaeformis*, *L. leptodon* ve *A. heterodon* ile yapılan bir araştırmada bakır toksisitesine karşı *A. heterodon*'un, *E. capsaeformis* ve *L. leptodon*'a oranla daha dirençli olduğu saptanmıştır (Wang ve ark., 2007). Eisler, (1995), *Mya arenaria*'da bakırın 96 saatlik LC_{50} değerinin sıcaklığa bağlı olarak değişim gösterdiğini, 22 °C'de LC_{50} değeri 0.35 ppm'iken 4 °C'de 3 ppm olduğunu belirlemiştir.

Corbicula manilensis'de erginlerin juvenillere oranla bakır toksisitesine karşı daha dirençli oldukları saptanmıştır. *C. manilensis* erginlerinde bakırın 96 saatlik LC_{50} değeri 2.6 ppm olarak belirlenmiştir (Harrison ve ark., 1984).

Bivalve'ler süzerek beslendiklerinden ve regülasyon yetenekleri sınırlı olduğundan ağır metalleri ortamdakinden çok daha yüksek derişimlerde biriktirebilirler (Puente ve ark., 1996). *U. terminalis* ile yapılan bu araştırmada da bakırın 1 ppm, 2 ppm ve 4 ppm'lik

ortam derişimlerinin 96 saat süreyle etkisinde sırasıyla total bakır birikim düzeyleri 56 µg Cu/g k.a., 77 µg Cu/g k.a. ve 28 µg Cu/g k.a. olarak belirlenmiştir. Metal birikimi bakımından kontrol grubu ile karşılaştırıldığında birikimin derişime bağılı olarak arttığı gözlenmiştir. Ortam derişimindeki artışa bağılı olarak birikim düzeyindeki artışın, midyelerin toksik maddeleri regüle etme yetenekleri ile detoksifikasyon mekanizmalarının sınırlı olmasından kaynaklanabilir.

Araştırmada incelenen en yüksek derişim olan 4 ppm'lik derişimin etkisindeki birikimin 1 ve 2 ppm'lik derişimlerin etkisindeki birikime oranla daha düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir. Özellikle sucul omurgasızlarla yapılan araştırmalarda bakırın ortam derişimindeki artışa paralel olarak birikim düzeyinde arttığı saptanmıştır (Eisler, 1977). Ancak midyelerde bakırın yüksek derişimlerinin etkisinde ölümden çok kısa bir süre önce birikim düzeyinde başlangıca oranla azalmaların meydana geldiği bildirilmiştir (Harrison ve ark., 1984). *U. terminalis* ile yapılan bu araştırmada da incelenen en yüksek derişimin etkisindeki birikim düzeyinin, düşük derişimlerin etkisindeki birikim düzeyine oranla daha düşük olması bununla ilişkili olabilir.

Sonuç olarak; tatlı su midyeleri, süzerek beslendiklerinden, regülasyon ve lokomasyon yeteneklerinin sınırlı olması, yaşam sürelerinin oldukça uzun olması kirlilik çalışmalarında indikatör canlı olarak yaygın bir şekilde kullanılmalarına neden olmaktadır.

Bu çalışmada Doğu Akdeniz bölgesinin iç sularında yaygın dağılım gösteren *U. terminalis*'te bakırın LC₅₀ değeri ile total bakır birikim düzeyleri tespit edilmiştir. *U. terminalis*'in bakır toksisitesine karşı nisbeten dirençli olduğu, bakır birikim düzeyinin derişim ile doğru orantılı olmadığı ortaya konmuştur.

KAYNAKLAR

- Allen, D.C., ve Vaughn, C.C. (2011) Density-dependent biodiversity effects on physical habitat modification by freshwater bivalves, *Ecology*, 95: 1013–1019.
- Başçınar, N.S., Düzgüneş, E., Mısır, D.S., Polat, H., Zengin, B. (2009) Growth and Flesh Yield of the Swan Mussel (*Anodonta cygnea* (Linnaeus, 1758)) (*Bivalvia*: Unionidae) in Lake Çıldır (Kars, Turkey), *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 9: 127-132.
- Cherry, D.S., Van Hassel, J.H., Farris, J.L., Soucek, D.J., Neves, R.J. (2002) Site Specific Derivation of the Acute Copper Criteria for the Clinch River Virginia, Human and Ecological Risk Assessment, 8(3):591-601.
- Cummings, K.S., ve Mayer, C.A. (1992) Field Guide to Freshwater Mussels of the Midwest. Illinois, Natural History Survey Manual 5, 194 pp.
- Eisler, R. (1977) Acute toxicities of selected heavy metals to the softshell clam, *Mya arenaria*, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 17:137-145.
- Eisler, R. (1995) Electroplating wastes in marine environments: a case history at Quonset Point, Rhode Island. Pages 539-548 in D.J. Hoffman, B.A. Rattner, G.A. Burton, and J. Cairns, Jr. (eds.). *Handbook of Ecotoxicology*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL.
- Grabarkiewicz, J.D., ve Davis, W.S. (2008) An Introduction to Freshwater Mussels as Biological Indicators, U.S. Environmental Protection Agency, 108 p.
- Graf, D.L., ve Cummings, K.S. (2007) Review of the systematics and global diversity of freshwater mussel species (*Bivalvia*: Unionoida), *Journal of Molluscan Studies*, 73:291-314.
- Harrison, F.L., Knezovich, J.P., Rice, D.W. (1984) The Toxicity of Copper to the Adult and Early Life Stages of the Freshwater Clam, *Corbicula manilensis*, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 13, 85-92.
- International Union for Conservation of Nature (IUCN) (2014) <http://www.iucnredlist.org/details/164866/0>.

- Jacobson, P.J., Farris, L.J., Cherry, D.S., Neves, R.J. (1993) Juvenile freshwater mussel (Bivalvia: Unionidae) responses to acute toxicity testing with copper, *Environ. Toxicol. Chem.*, 12:879-883.
- Jacobson, P.J., Farris, J.L., Neves, R.J., Cherry, D.S. (1997) Sensitivity of Glochidia Stages of Freshwater Mussels to Copper, *Journal of Aquatic Toxicology*, 16:2384-2392.
- Kara, C. (2004) Gavur Gölü (Kahramanmaraş)'nde Yaşamış Olan *Unio pictorum*(L., 1758)'un Bazı Biyolojik Özellikleri, *KSU. Journal of Science and Engineering*, 7(2).
- March, F.A., Dwyer, F.J., Augspurger, A., Ingersoll, C.G., Wang, N., Mebane, C.A. (2007) An evaluation of freshwater mussel toxicity data in the derivation of water quality guidance and standards for copper, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26(10):2066-2074.
- Milam, C.D., Farris, J.L., Dwyer, F.J., Hardesty, D.K. (2005) Acute toxicity of six freshwater mussel species (glochidia) to six chemicals: implications for daphnids and *Utterbackia imbecillis* surrogates for protection of freshwater mussels (Unionidae), *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 48(2):166-173.
- Muramoto, S., (1983) Elimination of Copper from Cu-Contaminated Fish by Long Term Exposure to EDTA and Freshwater, *J. Environ. Sci. Health*, A18(3):455-461.
- Naimo, T.J. (1995) A review of the effects of heavy metals on freshwater mussels, *Ecotoxicology* 4,341-362.
- Öktener, A. (2004) Sinop Ve Bafra'da Bazı Tatlısulardaki mollusca Türleri Üzerine Bir Ön Araştırma, *G.U. Journal of Science*, 17(2):21-30.
- Pip, E. (2006) Littoral mollusc communities and water quality in southern Lake Winnipeg, Manitoba, Canada. *Biodiversity and Conservation*, 15(11):3637-3652.
- Puente, X., Villares, R., Carral, E., Carballeira, N. (1996) Shell of *Mytilus galloprovincialis* as a biomonitor of heavy metal pollution in Galiza (NW Spain). *The Sci. Total Environ.* 183, 205-211.
- Vaughn C.C., Nichols S.J., Spooner, D.E. (2008) Community and foodweb ecology of freshwater mussels, *J N Am Benthol Soc*, 27: 409-423.
- Wang, N., Ingersoll, C.G., Greer, I.E., Hardesty, D.K., Ivey, C.D., Kunz, J.L., Brumbaugh, W.G., Dwyer, F.J., Robers, A.D., Augspurger, T., Kane, C.M., Neves, R.J., Barnhart, MC. (2007) Assessing contaminant sensitivity of early life stages of freshwater mussels (*Unionidae*): Acute toxicity testing of copper, ammonia, and chlorine to glochidia and juvenile mussels *Environmental Toxicology and Chemistry*, 38pp.