

Hekzavalent Kromun *Capoeta capoeta* (Guldenstaedt 1773) ve *Squalius cephalus* (Linnaeus 1758) Üzerine Olan Etkisinin Histopatolojik ve Elektroforetik Yöntemlerle Saptanması ^[1]

Evren KOÇ ¹  Muhtidin YILMAZ ² Yusuf ERSAN ² Ali ALAŞ ³

^[1] Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2010-FEF-51)

¹ Kafkas Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, TR-36100 Kars - TÜRKİYE

² Kafkas Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, TR-36100 Kars - TÜRKİYE

³ Necmettin Erbakan Üniversitesi, Ahmet Keleşoğlu Eğitim Fakültesi, Biyoloji Eğitimi Bölümü, TR-42090 Konya - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2013-9210

Özet

Çalışmada, Kars Çayı'ndan yakalanan Siraz balığı (*Capoeta capoeta*) ve Tatlısu kefali (*Squalius cephalus*) üzerine hekzavalent kromun (CrVI) (potasyum dikromat olarak) etkileri histopatolojik ve elektroforetik yöntemlerle incelendi. Balıklar çeşme suyunda 10 gün süreyle bekletilerek ortama adaptasyonları sağlandı. Daha sonra, her bir balık türü için her grupta 10'ar adet olmak üzere 3 grup oluşturuldu. I. gruptaki (kontrol) balıklar çeşme suyu içeren tankta, II. gruptaki balıklar 10 gün süreyle, III. gruptaki balıklar ise 20 gün süreyle 10 mg/L dozunda CrVI içeren tanklarda bekletildi. Bu süre sonunda, balıklardan kan ve doku örnekleri alındı, daha sonra analizler yapıldı. Histopatolojik inceleme sonucunda CrVI'a maruz kalan *Capoeta capoeta* ve *Squalius cephalus*'ların karaciğer dokularında fokal nekroz alanları, hidropik ve vakuolar dejenerasyonlar tespit edildi. Bu dejenerasyonların şiddetinin hekzavalent kroma maruz kalma süresiyle artış gösterdiği gözlemlendi. Serum proteinlerinin SDS-PAGE'inde ise 10 gün süreyle CrVI uygulamasına bağlı olarak *Capoeta capoeta*'nın bazı protein bantlarında hafif kalınlaşma olduğu, *Squalius cephalus*'un protein bantlarında ise belirgin bir değişikliğin şekillenmediği saptandı. Hekzavalent kromun 20 gün süreyle uygulandığı *Capoeta capoeta*'nın birçok protein bantlarında incelme, bazı protein bantlarında ise belirgin derecede kalınlaşmalar gözlemlendi. *Squalius cephalus*'da ise bazı protein bantlarında hafif derecede kalınlaşma meydana geldiği tespit edildi. Sonuç olarak; potasyum dikromat uygulamasının zamana bağlı olarak artan derecelerde *Capoeta capoeta* ve *Squalius cephalus* karaciğer dokularında ve protein ekspresyonlarında bozulmalara neden olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar sözcükler: *Capoeta capoeta*, *Squalius cephalus*, KromVI, SDS-PAGE, Karaciğer dejenerasyonu

Detection of the of Effects of Hexavalent Chromium by Histopathological and Electrophoretic Methods on *Capoeta capoeta* (Guldenstaedt 1773) and *Squalius cephalus* (Linnaeus 1758)

Summary

In this study, effects of hexavalent chromium (CrVI) (as potassium dichromate) on *Capoeta capoeta* and *Squalius cephalus* obtained from Kars Creek were investigated by histopathological and electrophoretic methods. Fish were adapted into the medium for 10 days. Then three groups were made in which for each fish species ten fish were included. The fish in the 1st group were held in normal water, 2nd and 3rd groups were held in the water containing 10 mg/L CrVI, respectively for 10 and 20 days. At the end of this period, tissue and blood samples were taken. These samples were analyzed subsequently. After histopathological examination occasional necrosis, hydropic and vacuolar degenerations in liver of the fish were found which were exposure to 10 mg/L CrVI. An increase in the level of degeneration was observed in the livers tissues of the experimental fish groups in parallel to the increase of the duration. In SDS-PAGE of serum proteins, compared to control, slight thickening of some protein bands were detected in the *Capoeta capoeta* exposed to CrVI for 10 days. There were no significant changes in protein bands of *Squalius cephalus*. Thinning of some protein bands and a significant thickening of some protein bands in the *Capoeta capoeta*. Slight thickening of some protein bands were detected in the *Squalius cephalus* exposed to hexavalent chromium for 20 days. In exposure to depending on the time of hexavalent chromium on *Capoeta capoeta* and *Squalius cephalus*, it is concluded that liver tissue and serum protein expressions of these fish were increasingly degenerated.

Keywords: *Capoeta capoeta*, *Squalius cephalus*, ChromiumVI, SDS-PAGE, Degeneration of Liver



İletişim (Correspondence)



+90 474 2251279



evrenkoc@hotmail.com.tr

GİRİŞ

Krom doğal çevrede saf metalik olarak bulunmayan en yaygın elementlerden biridir. Kromun divalent (CrII), trivalent (CrIII) ve oksidasyonu sonucu oluşan hekzavalent (CrVI) formları bulunmaktadır [1]. Krom çok sert olması ve erime noktasının 1900°C ve kaynama noktasının 2642°C olması nedeniyle, metallere sertlik sağlanması ve zırhlı araç yapımı için kullanılır. Başlıca kullanım alanı nikel ile beraber paslanmaz çelik yapımıdır. Krom doğada +3 yüklüdür, indirgenme reaksiyonuyla +6 değerlik alır [2]. Krom doğal ya da insan kaynaklı yollarla CrIII ve CrVI şeklinde hava, su ve toprağa karışır. En toksik olanı CrVI'dır. Hekzavalent kromun karsinojenik, mutajenik ve teratojenik etkileri bulunmaktadır [3].

Kromun balıklar üzerine akut toksisite çalışmalarında, Vutukuru [4], *Labeo rohita*'ya 24-96 saat süreyle CrVI'ya maruz bırakmış ve LD50 değerlerini sırasıyla 111.45 ve 39.40 mg/L olarak hesaplamıştır. Bunun yanı sıra, hematolojik parametrelere göre anemi gözlemiştir. Biyokimyasal parametrelerden total glikojen, lipit ve protein içeriklerinde azalmalar olduğunu tespit etmiştir. Boge ve ark. [5], *Salmo gairdneri* ve *Dicentrarchus labrax* üzerine CrVI kromun letal olmayan dozlarını uygulayarak bağırsak enzimleri üzerine etkilerini incelemiş, 13 ve 21 günlük krom maruziyeti sırasıyla 18 mg/L (*Salmo*) ve 5 mg/L (*Dicentrarchus*) olarak uygulanmış ve Alkalın fosfataz'da azalma, Na/K ATPaz aktivitesinde artış gözlemlenmiştir. Kuykendall ve ark. [6], *Oncorhynchus mykiss*, hibrit *Lepomis macrochirus* ve *Ictalurus punctatus* üzerine kromu 4 gün süreyle uygulamış ve DNA-protein çapraz bağlarını (DPXs) gözlemlenmiştir. Sonuç olarak kromun *Lepomis* ve *Ictalurus*'ların eritrositlerinde DPX oluşumunun arttığını belirtmişlerdir.

Krom deri, tekstil, paslanmaz çelik, elektrokaplama gibi birçok endüstri alanında su kaynaklarına boşaltılmakta ve başta balık popülasyonları olmak üzere sucul ekosistem için oldukça ciddi tehdit oluşturmaktadır [7-9]. Kromun balıkların karaciğer, solungaç, böbrek gibi organları üzerine doz ve zamana bağlı olarak morfolojik olarak değişikliklere neden olduğu bilinmektedir. Bu çalışmaların ışığı altında, *Capoeta capoeta* (Guldenstlead 1773) ve *Squalius cephalus* (Linnaeus 1758) üzerine hekzavalent kromun histopatolojik ve elektroforetik etkilerinin araştırılması amaçlandı.

MATERYAL ve METOT

Deney Gruplarının Oluşturulması

Bu çalışmada, Kars Çayı'ndan yakalanan *Capoeta capoeta* (250-320 g ve *Squalius cephalus* (150-230 g) balık türleri kullanıldı. Balıkların toplandığı suyun kalitesi; pH: 7.9-8.3, O₂: 5.0-8.6, konduktivite: 210 ms/cm², NH₃: 420 µg/L, PO₄: 55.2 µg/L, NO₃: 0.263 µg/L, sıcaklık: 17.5-19.0°C olarak tespit edildi. Laboratuvar ortamında 500 L'lik tanklara alınarak çeşme suyunda 10 gün süreyle ortama

adaptasyonları sağlanan balıklar daha sonra her grupta 10'ar adet *Capoeta capoeta* ve *Squalius cephalus* bulunan 3 gruba ayrıldı. I. gruptaki (kontrol) balıklar çeşme suyu içeren tankta, II. gruptaki balıklar 10 gün süreyle, III. gruptaki balıklar ise 20 gün süreyle 10 mg/L dozunda potasyum dikromat (K₂Cr₂O₇) içeren tanklarda bekletildi. Çalışma esnasında ise tanklardaki su sıcaklığı termostatik termometre aracılığıyla 18±0.2 ve O₂ miktarı ise 5±0.4 olarak ayarlandı. Çalışma süresi sonunda elektroforetik inceleme için balıkların kuyruk venlerinden kan örnekleri ve daha sonra da histopatolojik çalışmalar için karaciğer doku örnekleri alındı.

Histopatoloji

Deneklerden alınan doku örnekleri %10'luk fosfat buffer formaldehit solusyonuna alınıp 48 saat tespit edildikten sonra, doku örnekleri bir gece akarsuda yıkandı. Daha sonra sırasıyla alkol, ksilol serilerinden geçirildi ve 65°C'ye ayarlanan etüvde bir gece parafinde bırakıldıktan sonra kasetlerde parafine gömüldü. Hazırlanan bu parafin bloklardan 3-5 mm kalınlığında kesitler alınarak, hematoksilen ve eozin (HE) boyama metoduna göre boyanarak ışık mikroskopunda (Olympus BX51, JAPAN) değerlendirildi.

Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)

Alınan kan numuneleri +4°C ve 3.000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek serumun ayrılması sağlanmıştır. Alınan serumlar analizler yapıncaya kadar -20°C'de saklandı. Numunelerin protein konsantrasyonları biüret yöntemi ile ölçülerek [10], SDS-PAGE işlemi Laemmli ve O'Farrell metodlarına göre yapıldı [11,12]. Proteinler, 16x10 cm boyutlarında ve 1 mm kalınlığında slab jelde sepepa edildi. Slab jel, proteinlerin stoklandığı yoğunlaştırıcı ve daha sonra da proteinlerin sepepa edildiği ayırıcı jel kısımlarından meydana gelmektedir. %10 akrilamid içeren ayırıcı jel elektroforez işleminden 12 saat önce hazırlanarak polimerize edilerek bir gece buzdolabında saklandı. %4 akrilamid içeren yoğunlaştırıcı jel ise elektroforez işleminden 2 saat önce hazırlanarak polimerize edildi. Her numune ve standart %10 gliserol, %2 merkaptetanol (2-ME), %2 sodyum dodesil sülfat (SDS), %0.01 brom fenol blue (BFB) içeren numune tamponu ile karıştırılarak protein konsantrasyonları sırası ile 2 µg/µl ve 0.2 µg/µl'ye ayarlandı ve daha sonra numuneler ve standart proteinler kaynar suda 3 dk bekletilerek proteinlerin denatürasyonu sağlandı.

Yoğunlaştırıcı jelden her bir jel çukuruna 20 µl serum numunesi ve standart protein uygulanarak brom fenol blue jelin en alt kısmına gelinceye kadar jele 200 voltluk gerilim verildi. Elektroforez işlemi sonrası jeller, %0.125 coomassie blue R-250, %40 metanol ve %7 asetik asit bulunan boya çözeltisi içerisinde su banyosunda 56°C'de 20-30 dk'da boyandı. Jeldeki fazla boya %5 metanol ve %7.5 asetik asit içeren çözelti ile su banyosunda 56°C'de her 20 dk'da

bir çözelti değiştirilmek suretiyle 1 saatte dekolore edildi. Elektroforez uygulamasında protein standardı olarak, sığır albumini (66 kD), yumurta albumini (45 kD), gliseralehit-3-fosfat dehidrojenaz (36 kD) ve tripsinojen (24 kD) kullanıldı.

BULGULAR

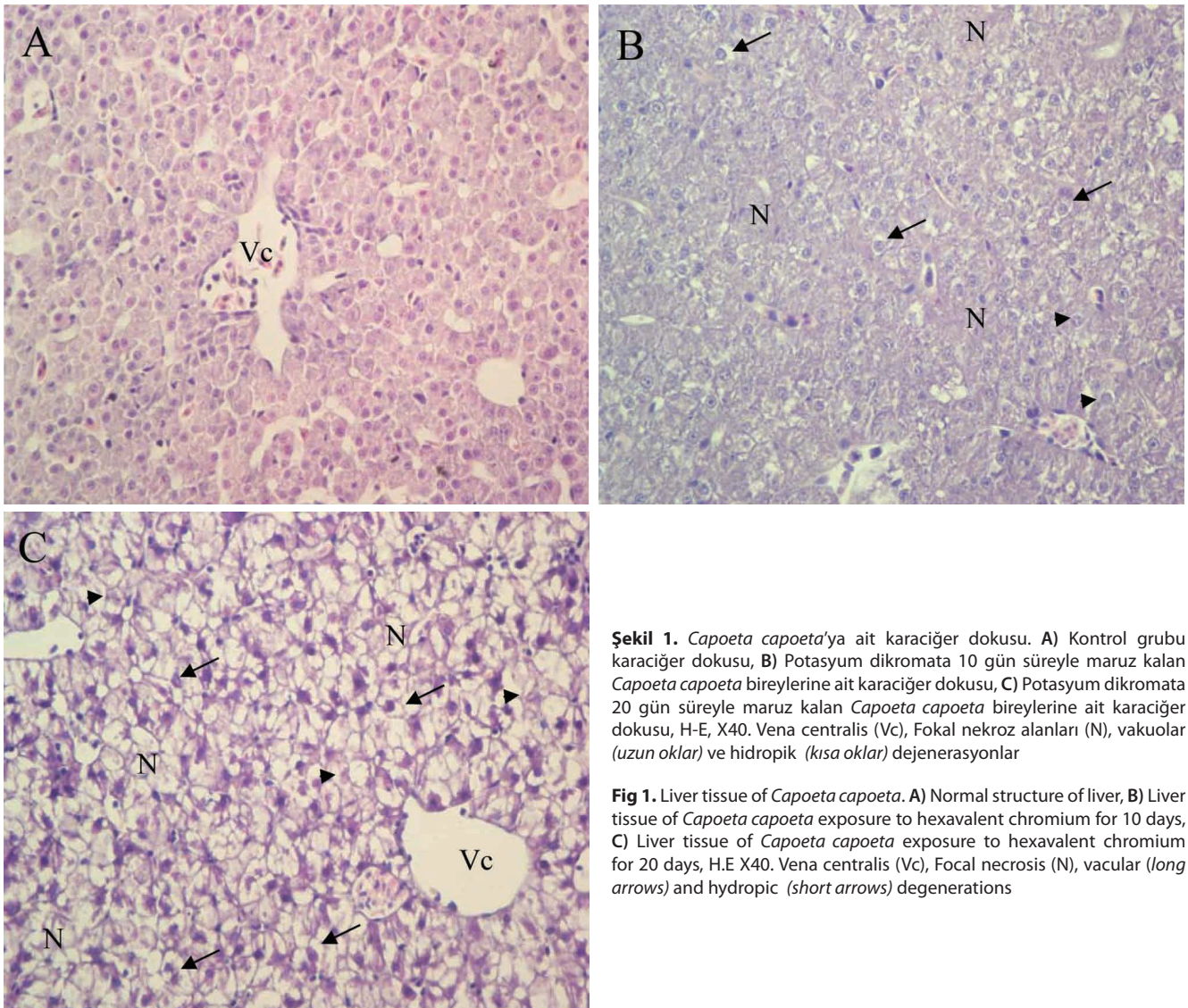
Histopatolojik Bulgular

Capoeta capoeta ve *Squalius cephalus*'da kontrol grubuna ait karaciğer dokularının mikroskopik incelemesinde herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmamış olup, sinozoidal yapının ve hepatositlerin normal görünümde olduğu gözlemlendi (Şekil 1A, Şekil 2A). Potasyum dikromatin 10 mg/L dozuna 10 gün süreyle maruz kalan II. gruptaki *Capoeta capoeta* ve *Squalius cephalus*'a ait karaciğer dokularının mikroskopik incelemesinde ise fokal nekroz alanları ile birlikte vakuolar ve hidropik dejenerasyonlar tespit edildi (Şekil 1B, Şekil

2B). Aynı dozda potasyum dikromata 20 gün süreyle maruz bırakılan III. gruptaki balıkların karaciğer dokularında da nekroz alanları, vakuolar ve hidropik dejenerasyonlar saptanmış olup bu dejenerasyonların şiddeti uygulanan süreyle birlikte artış gösterdiği belirlendi (Şekil 1C, Şekil 2C).

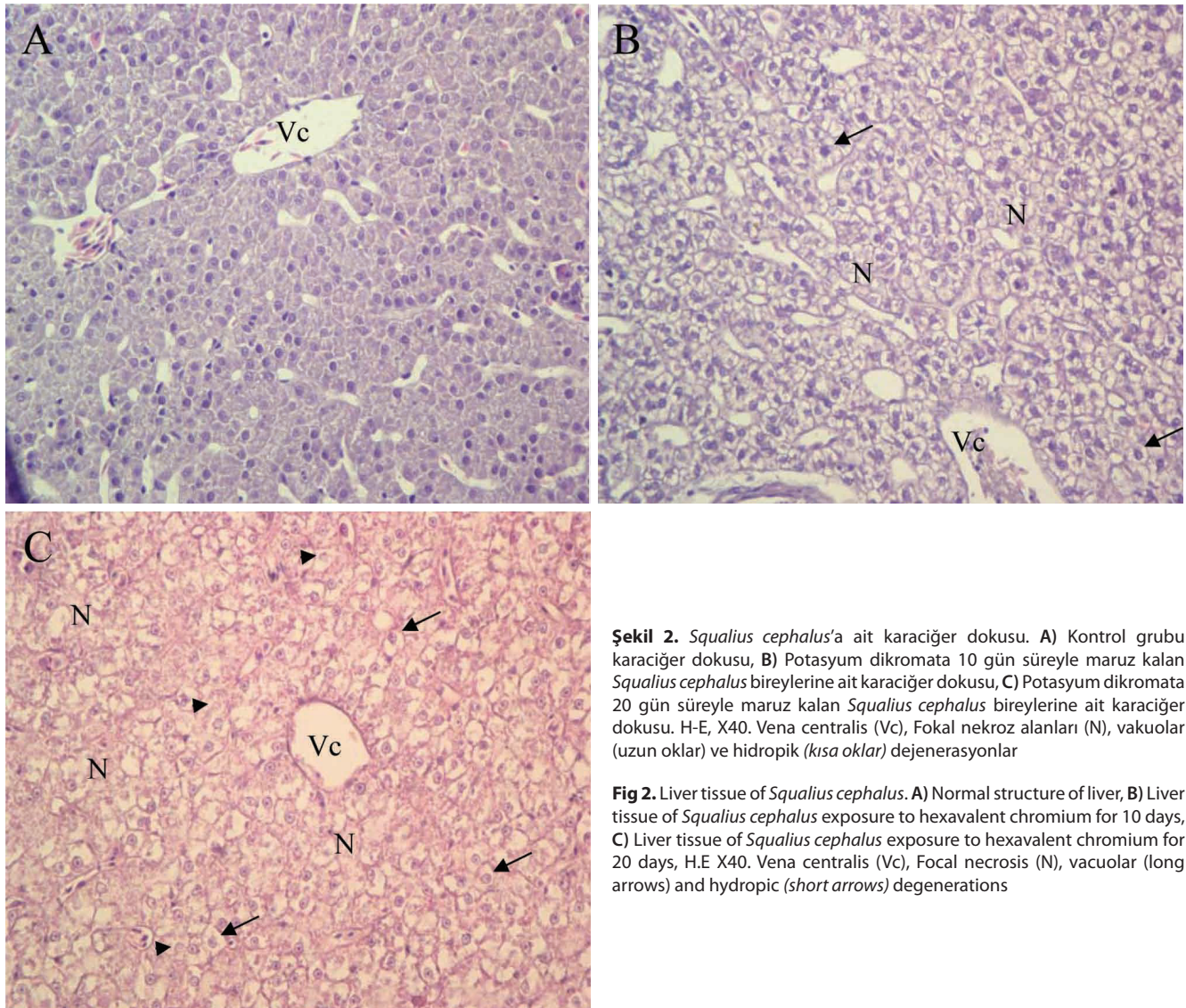
Elektroforetik Bulgular

SDS-PAGE'den elde edilen elektroferograma göre, 10 gün süreyle potasyum dikromat uygulamasına bağlı olarak *Capoeta capoeta*'nın 95 kD, 38 kD ve 30 kD'luk protein bantlarında hafif kalınlaşma olduğu, *Squalius cephalus*'un protein bantlarında ise belirgin bir değişikliğin şekillenmediği saptandı (Şekil 3). Potasyum dikromat'ın 20 gün süreyle uygulandığı *Capoeta capoeta*'nın 77 kD, 62 kD ve 15 kD'luk protein bantlarında incelmeye, 47 kD ve 38 kD'luk protein bantlarında ise belirgin derecede kalınlaşma gözlemlendi. *Squalius cephalus*'da ise 80 kD, 62 kD ve 38 kD molekül ağırlığına sahip protein bantlarında hafif derecede kalınlaşma meydana geldiği tespit edildi (Şekil 4).



Şekil 1. *Capoeta capoeta*'ya ait karaciğer dokusu. A) Kontrol grubu karaciğer dokusu, B) Potasyum dikromata 10 gün süreyle maruz kalan *Capoeta capoeta* bireylerine ait karaciğer dokusu, C) Potasyum dikromata 20 gün süreyle maruz kalan *Capoeta capoeta* bireylerine ait karaciğer dokusu, H-E, X40. Vena centralis (Vc), Fokal nekroz alanları (N), vakuolar (uzun oklar) ve hidropik (kısa oklar) dejenerasyonlar

Fig 1. Liver tissue of *Capoeta capoeta*. A) Normal structure of liver, B) Liver tissue of *Capoeta capoeta* exposure to hexavalent chromium for 10 days, C) Liver tissue of *Capoeta capoeta* exposure to hexavalent chromium for 20 days, H.E X40. Vena centralis (Vc), Focal necrosis (N), vacuolar (long arrows) and hydropic (short arrows) degenerations



Şekil 2. *Squalius cephalus*'a ait karaciğer dokusu. **A)** Kontrol grubu karaciğer dokusu, **B)** Potasyum dikromata 10 gün süreyle maruz kalan *Squalius cephalus* bireylerine ait karaciğer dokusu, **C)** Potasyum dikromata 20 gün süreyle maruz kalan *Squalius cephalus* bireylerine ait karaciğer dokusu. H-E, X40. Vena centralis (Vc), Fokal nekroz alanları (N), vakuolar (uzun oklar) ve hidropik (kısa oklar) dejenerasyonlar

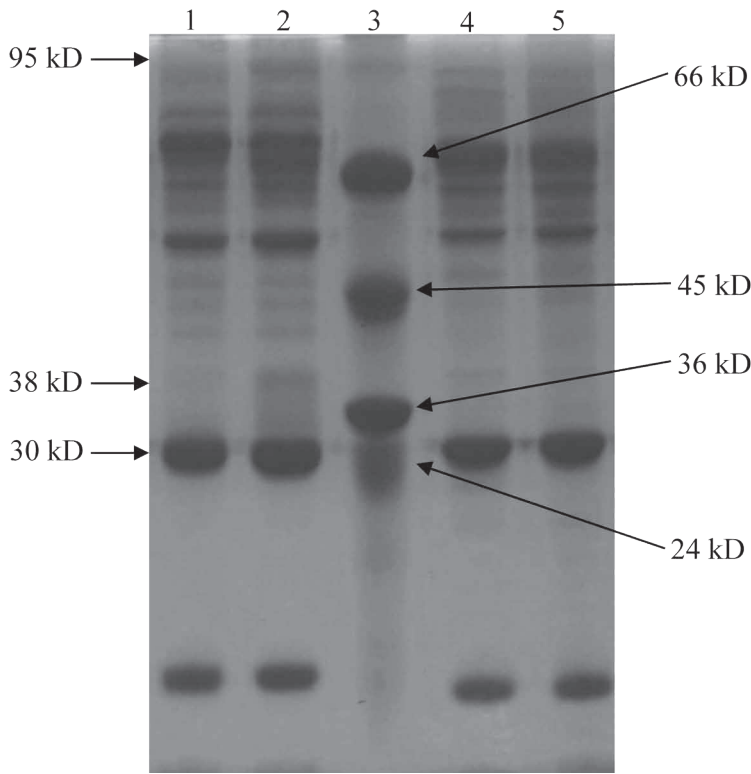
Fig 2. Liver tissue of *Squalius cephalus*. **A)** Normal structure of liver, **B)** Liver tissue of *Squalius cephalus* exposure to hexavalent chromium for 10 days, **C)** Liver tissue of *Squalius cephalus* exposure to hexavalent chromium for 20 days, H-E X40. Vena centralis (Vc), Focal necrosis (N), vacuolar (long arrows) and hydropic (short arrows) degenerations

TARTIŞMA ve SONUÇ

Mutajenik ve teratojenik özellikleriyle beraber karsinogen etki gösteren krom endüstriyel bir kirleticidir. Krom balıklarda çeşitli düzeylerde patolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve genetik olarak ters etkili olabilmektedir. Krom VI'nın balıklar üzerine etkilerini belirlemek amacıyla birçok araştırmacı çalışmalar yapmış ve kromun toksik bir ağır metal olduğunu açıkça belirlemişlerdir. Yapılan bir çalışmada hekzavalent kromun subletal dozları sazan (*Cyprinus carpio*)'a uygulanarak histolojik değişimler gözlenmiştir. Böbreklerde nekroz, piknotik nükleusla birlikte, hematopoetik dokunun hücrelerinde bozulma ve glomerolusun dejenerasyonu ile birlikte renal tübüllerde atrofi tespit edildiği bildirilmektedir [13]. Krom VI'nın farklı dozlarının (50, 100 ve 200 mg/L) gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üzerine uygulanması sonucu beyin ve solungaçlarda Na/K ATPaz'ın yanı sıra, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon redüktaz (GR) antioksidan enzimleri üzerine etkileri incelenmiştir. Beyin ve solungaç-

larda SOD ve GR'lerde azalmalar tespit edilmiştir. Solungaçlarda Na/K ATPaz aktivitelerinde önemli derece inhibisyonlar olduğu belirtilmiştir [14]. Tilapia türü olan *Oreochromis aureus* üzerine yüksek konsantrasyonlarda potasyum dikromat ve deterjan uygulanmış ve bu toksikanların meydana getirebileceği genetik değişimler gözlenmeye çalışılmıştır. Deneme sonunda ölen ve hayatta kalan örneklerin tamamının genetik yapısı Malic Enzyme (ME), Isocitrate Dehydrogenase (ICD), Aspartate Amino Transferase (AAT), Phosphoglucose Isomerase (PGI), Malate Dehydrogenase (MDH), Glycerophosphate Dehydrogenase (G3PDH) enzimleri kullanılarak alloenzim elektroforez metoduyla analiz edilmiş ve PGI, MDH ve G3PDH enzimlerinde genotip tayini gerçekleştirilememiştir. ME, ICD ve AAT enzimlerinin genotip tayini yapılarak, genotip tayini sonunda, AAT enziminde bir çeşit homozigot genotip elde edilirken, ME ve ICD enzimlerinde iki çeşit homozigot genotip tespit edilmiştir [15].

Memelilerde olduğu gibi balıklarda da karaciğer dokusu önemli bir detoksifikasyon merkezidir. Burada bulunan

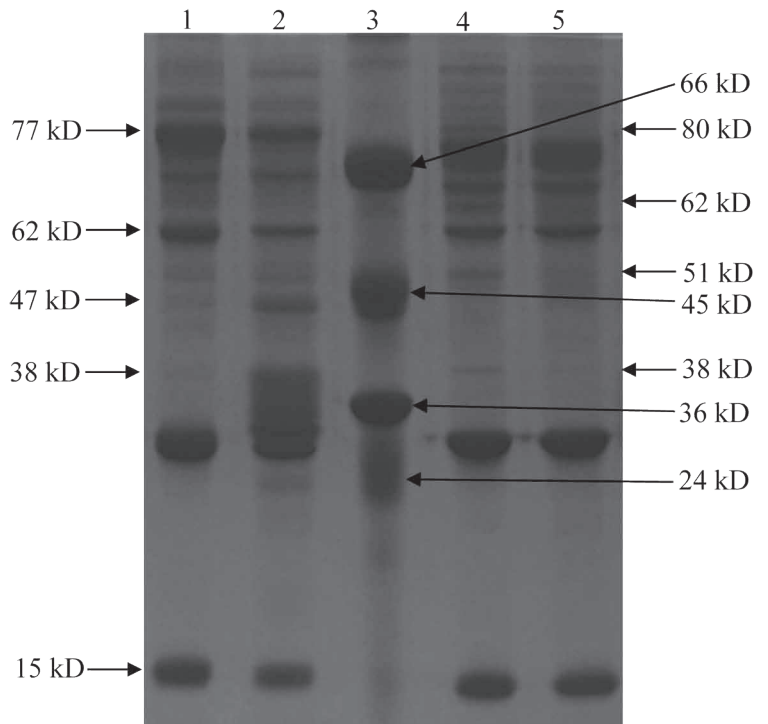


Şekil 3. Potasyum dikromatın 10 mg/L dozunda 10 gün süreyle uygulama sonrası balıkların kan serumlarının SDS-PAGE'de yürütülmesi ile elde edilen elektroferogram. 1- *Capoeta capoeta* kontrol grubu, 2- *Capoeta capoeta* Potasyum dikromat uygulanan grup, 3- standart proteinler, 4- *Squalius cephalus* kontrol grubu, 5- *Squalius cephalus* Potasyum dikromat uygulanan grup

Fig 3. Serum proteins electropherograms of *Capoeta capoeta* and *Squalius cephalus* exposure to hexavalent chromium for 10 mg/L 10 days. 1. lane: control group of *Capoeta capoeta*, 2. lane: group of *Capoeta capoeta* exposure to hexavalent chromium, 3. lane: standard proteins, 4. lane: control group of *Squalius cephalus*, 5. lane: group of *Squalius cephalus* exposure to hexavalent chromium

Şekil 4. Potasyum dikromatın 10 mg/L dozunda 20 gün süreyle uygulama sonrası balıkların kan serumlarının SDS-PAGE'de yürütülmesi ile elde edilen elektroferogram. 1- *Capoeta capoeta* kontrol grubu, 2- *Capoeta capoeta* Potasyum dikromat uygulanan grup, 3- Standart proteinler, 4- *Squalius cephalus* kontrol grubu, 5- *Squalius cephalus* Potasyum dikromat uygulanan grup

Fig 4. Serum proteins electropherograms of *Capoeta capoeta* and *Squalius cephalus* exposure to hexavalent chromium for 10 mg/L 20 days. 1. lane: control group of *Capoeta capoeta*, 2. lane: group of *Capoeta capoeta* exposure to hexavalent chromium, 3. lane: standard proteins, 4. lane: control group of *Squalius cephalus*, 5. lane: group of *Squalius cephalus* exposure to hexavalent chromium



methallotiyonin, SOD, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi birçok enzim ağır metallerin toksik etkilerine karşı koruma sağlamada görevlidirler [16]. Farklı balık türleri üzerinde yapılan araştırmalarda da kromun karaciğer dokusu üzerine etkileri ortaya konmuştur. Mishra ve ark.[7], *Channa punctatus* üzerine hekzavalent kromun kronik ile subletal dozlarını uygulamışlar ve karaciğerde hepatosit hücrelerinde vakuolizasyon, piknotik nukleus ve sinuzoidal

boşluklarda artışlar olduğunu bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar başka bir çalışmada hekzavalent kromu *Channa punctatus* üzerine uygulayarak akut toksik etkilerini incelemişler ve krom tuzunun 96 saatlik LC50 değerini 41.75 mg/L olarak tespit etmişlerdir. Bununla birlikte krom toksisitesine bağlı olarak hepatositlerde atrofi ve sinuzoidal boşluklarda artış gözlenmiştir [8]. Başka bir çalışmada, Kroma maruz bırakılan Japon balığı (*Carassius*

auratus)'larda krom maruziyeti neticesinde karaciğer dokularında dejenerasyon ve vena centraliste nekrozlar gözlemlendiği bildirilmiştir [9]. Mevcut çalışmada, 10 mg/L dozunda potasyum dikromata 10 gün süreyle maruz kalan *Capoeta capoeta* ve *Squalius cephalus*'a ait karaciğer dokularının mikroskopik incelemesinde ise fokal nekroz alanları ile birlikte vakuolar ve hidropik dejenerasyonlar tespit edildi. Yine 20 gün boyunca potasyum dikromata maruz bırakılan balıkların karaciğer dokularında da nekroz alanları, vakuolar ve hidropik dejenerasyonlar saptanmış olup, bu dejenerasyonların şiddetinin uygulanan süreyle birlikte artış gösterdiği belirlendi. Bulguların yukarıda bahsedilen literatürlerle paralellik gösterdiği tespit edildi.

Yapılan literatür incelemelerinde, hekzavalent kromun serum protein ekspresyonları üzerine etkileri ile ilgili bilgiye rastlanamamıştır. Ancak yapılan diğer ağır metal çalışmalarında *Capoeta capoeta* ve *Squalius cephalus*'un serum protein ekspresyonlarında değişiklikler meydana geldiği bildirilmektedir. Yılmaz ve ark. [17], kobalt parahidroksibenzoat toksitesi neticesinde *Capoeta capoeta capoeta*'nın büyük molekül ağırlıklı protein bantlarında kalınlaşmalar ve düşük molekül ağırlıklı protein bantlarında ise incelmeler meydana geldiğini belirtmişlerdir. Benzer bir araştırmada Bayram ve ark. [18], *Capoeta capoeta capoeta*'nın serum proteinleri üzerine 1 mg/L ve 2 mg/L dozlarında kobalt (II) klorür'ün etkilerini araştırmışlar ve kontrol grubuna göre deney gruplarındaki birçok protein bantında incelmeler olduğunu, bununla birlikte 1 mg/L'lik grupta 32.4 kD, 2 mg/L'lik grupta ise 33.3 kD, 30.6 kD ve 28.2 kD'luk yeni proteinlerin sentezlendiği saptamışlardır. Başka bir araştırmada da, *Squalius cephalus* üzerine 1 mg/L ve 2 mg/L kadmiyum sülfat uygulama sonrası CdSO₄ konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak protein bantlarında kademeli bir incelmeye meydana geldiği, 1 mg/L kadmiyum sülfat uygulanan grupta 35.3 kD ve 100.5 kD'luk proteinlerde, 2 mg/L kadmiyum sülfat uygulanan grupta da 44.5 kD ve 47.3 kD'luk proteinlerde inhibisyon tespit edildiği belirtilmiştir [19]. Yapılan bu çalışmada ise 10 gün süreyle hekzavalent kroma maruz kalan *Capoeta capoeta*'ların bazı protein bantlarında kalınlaşmalar meydana geldiği, *Squalius cephalus* bireylerinin protein bantlarında ise belirgin bir değişikliğin şekillenmediği saptandı. Denemenin II. grubunda 20 günlük hekzavalent krom maruziyeti neticesinde ise *Capoeta capoeta* ve *Squalius cephalus* bireylerinin serum protein bantlarında kalınlaşmalarla birlikte *Capoeta capoeta* bireylerine ait bazı protein bantlarında incelmeler meydana geldiği tespit edildi. Yukarıdaki literatürlerde [17-19] de görüldüğü gibi, ağır metallerin doza ve süreye bağlı olarak serum protein ekspresyonları üzerinde farklı etkiler gösterdiği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, *Capoeta capoeta* ve *Squalius cephalus* balıklarında 10 ve 20 gün süreyle 10 mg/L dozunda uygulanan hekzavalent kromun toksik etki meydana getirdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, elektroforezden elde edilen protein

bantlarındaki değişikliklerin krom maruziyeti için belirteç olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Vincent S, Ambrose T, Arun Kumar LC, Selvanayagam M: Biochemical responses of the Indian Major carp *Catla catla* (HAM.) to chromium toxicity. *Indian J Environ Health*, 37, 192-196, 1995.
2. Eisler R: Chromium hazards to fish, wildlife, and invertebrates: A synoptic review. *U.S. Fish Wildl. Serv. Biol. Rep.* 85(1.6), 60 pp. 1986.
3. Velma V, Vutukuru SS, Tchounwou PB: Ecotoxicology of chromium in freshwater fish: A critical review. *Rev Environ Health*, 24 (2): 129-145, 2009.
4. Vutukuru SS: Acute effects of hexavalent chromium on survival, oxygen consumption, hematological parameters and some biochemical profiles of the Indian Major Carp, *Labeo rohita*. *Int J Environ Res Public Health*, 2 (3): 456-462, 2005.
5. Boge G, N'Diaye P, Roche H, Peres G: Effects of Hexavalent chromium at non-lethal concentrations on the enzymology of the intestine of *Salmo gairdneri* and *Dicentrarchus labrax* (Pisces). *J Physiol*, 83 (2): 57-63, 1988-1989.
6. Kuykendall JR, Miller KL, Mellinger KM, Cain AJ, Perry MW, Bradley M, Jarvi EC: DNA-protein cross-links in erythrocytes of freshwater fish exposed to hexavalent chromium or divalent nickel. *Arch Environ Contam Toxicol*, 56 (2): 260-267, 2009.
7. Mishra AK, Mohanty B: Chronic exposure to sublethal hexavalent chromium affects organ histopathology and serum cortisol profile of a Teleost, *Channa punctatus* (Bloch). *Sci Total Environ*, 407, 5031-5038, 2009.
8. Mishra AK, Mohanty B: Acute Toxicity impacts of hexavalent chromium on behavior and histopathology of gill, kidney and liver of the freshwater fish, *Channa punctatus* (Bloch). *Environ Toxicol and Pharmacol*, 26, 136-141, 2008.
9. Velma V, Tchounwou PB: Chromium-induced biochemical, genotoxic and histopathology effects in liver and kidney of Goldfish, *Carassius auratus*. *Mutation Res*, 698, 43-51, 2010.
10. Weber K, Pringle J, Osborn M: Measurement of molecular weights by electrophoresis on SDS- Acrylamide Gel. *Meth Enzymol*, 26, 3-27, 1972.
11. Laemmli UK: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685, 1970.
12. O'Farrell PH: High resolution two-dimensional electrophoresis of biological properties and significance. *Comp Biochem Physiol*, 88 M, 497-501, 1975.
13. Tayyab S, Tanveer A: Histological alterations in *Cyprinus carpio* kidney due to sublethal concentrations of chromium hexavalent. *Int J Agric Biol*, 13, 458-460, 2011.
14. Li ZH, Li P, Randak T: Evaluating the toxicity of environmental concentrations of waterborne chromium (VI) to a model teleost, *Oncorhynchus mykiss*: A comparative study of *in vivo* and *in vitro*. *Comp Biochem Physiol C*, 153, 402-407, 2011.
15. Sevenler S, Yağlıoğlu D, Gürlek M, Turan C: Toksik Kirlenmeye maruz bırakılan Tilapia'da (*Oreochromis aureus*) genetik değişim ve tolerans ilişkisi. *Türk Sucul Yaşam Derg.* 5-8, 528-537, 2007.
16. Viarengo A: Biochemical effects of trace metals. *Mar Poll Bull*, 16, 153-158, 1985.
17. Yılmaz M, Ersan Y, Karaman M, Özen H, Koç E, Necefoğlu H: Toxic effects of cobalt parahydroxybenzoate on tissue histopathology and serum proteins in *Capoeta capoeta capoeta*. *Fresen Environ Bull*, 17 (9a): 1322-1327, 2008.
18. Bayram Y, Yılmaz M, Ersan Y, Koç E, Baysal A: Toxic Effects of Cobalt II Chloride on Tissue Histopathology and Serum Proteins in *Capoeta capoeta capoeta* (Guldenstaedt 1772). *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (B): S259-S263, 2010.
19. Yılmaz M, Ersan Y, Koç E, Özen H, Karaman M: Toxic effects of cadmium sulphate on tissue histopathology and serum protein expression in *Leuciscus cephalus* (L. 1758). *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17 (A): S131-S135, 2011.