

***Carassius carassius*' da BAKIR-KADMIYUM ETKİLEŞİMİNİN KARACİĞER TOTAL PROTEİN MİKTARI ÜZERİNE ETKİSİ**

Utku Güner*

Trakya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü-Edirne

Özet:

Bu araştırmada, her hangi bir biyolojik işleve sahip olmayıp oldukça toksik bir ağır metal olan Kadmiyum (Cd) ile organizmanın eser miktarda kullandığı Bakır (Cu)'ın 10 gün süreyle statik koşullarda belirlenen sublethal ortam derişiminde, (*Carassius carassius*)'nın karaciğer protein miktarı üzerine etkileri incelenmiştir. Dokularda (solungaç, kas ve karaciğer) biriken Cd ve Cu belirlenmesinde Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (AAS) kullanılmıştır. Karaciğerdeki total protein miktarı Lowry yöntemi ile analiz edilmiştir. Artan Cu dozlarında karaciğer dokusunda total protein miktarının artış gösterdiği, Cd etkisinin ise daha yüksek dozlarda ortaya çıktığı belirlenmiştir. Cu-Cd etkileşiminde ise en yüksek total protein seviyesi 0,5-0,5 ppm Cd-Cu etkileşiminde belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Cu, Cd, birikim, etkileşim, protein miktarı, *Carassius carassius*

Abstract:

Effects of Copper and Cadmium Interaction on Total Protein Levels in Liver of *Carassius carassius*

The aim of the present study was to determine the effects of cadmium, a rather toxic metal without a biological role, and copper on protein levels of liver of *Carassius carassius* following a 10 days of exposure period at static condition. Cd and Cu values in each tissue (Gill, muscle and liver) were determined by flame atomic absorption spectrophotometer. The total protein amounts of liver were analyzed by Lowry method. The total protein levels of liver tissue increased with increasing Cu doses, while effect of Cd was determined with higher doses. The highest protein level was determined as 0,5-0,5 ppm in Cu-Cd interaction.

Keywords: Cadmium, copper, accumulation, interaction, protein amount, *Carassius carassius*

*** Correspondence to:**

Dr. Utku GÜNER, Trakya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, 22030, Edirne-TÜRKİYE

Tel: (+90 284) 235 28 26 /1194 Fax: (+90 284) 235 40 10

E-mail: uguner@trakya.edu.tr

Giriş

Canlılar normal gelişimleri ve biyolojik işlevlerini sürdürebilmeleri için eser miktarda Cu, Zn, ve Fe gibi iz elementlere gereksinim duymaktadırlar. Hg, Pb ve Cd gibi ağır metallerin ise her hangi bir biyolojik işlevleri olmadığı gibi, eser miktarda da toksik etkili oldukları saptanmıştır (Johnson 1988). Cu ve Cd kullanım alanları kullanım miktarları günümüze kadar artış göstermektedir (Hodson 1988).

Gerek doğal gerekse antropojenik faktörlerin etkisi ile sucul ortamdaki derişimi artan ağır metaller, sucul organizmalar tarafından ortamdan alınmakta ve besin zinciri aracılığı ile üst trofik düzeylere artan derişimlerde iletilerek, metabolik bakımdan aktif doku ve organlarda birikmekte, hücresel veya moleküler düzeyde yapısal ve işlevsel bozukluklara hatta mortaliteye neden olmaktadır (Tort ve Torres 1988, Heath 1995).

Çeşitli balık türlerinde doku ve organlardaki Cu birikiminin, kan parametrelerinde değişikliğe neden olurken, karaciğer enzimlerinin aktivasyonunu inhibe ettiği, gelişme ve üremeyi olumsuz yönde etkilediği (Beaumont ve ark. 2000), Cd'un ise karaciğer, böbrek, solungaç, dalak ve kemik iliğinde patolojik derişimlere, hipokalsemi ve hipoglisemiye neden olduğu, solungaçlardan Ca⁺⁺ alınımını engellediği, plazma iyon kompozisyonu ile ozmoregülasyonu etkilediği belirlenmiştir (Ricard ve ark. 1998).

Balıkların doku ve organlarındaki ağır metal birikimi, türe, metale, metalin ortam derişimine, etkide kalma süresine, gelişme evresine, ortamın fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlı olarak deriştği gibi ortamda bulunan diğer metallere göre de derişmektedir (Pagenkopf 1983). Doğal ortamlarda metaller tek başlarına bulunmadıklarından, metal karışımlarının etkisinde doku ve organlardaki metal birikiminin incelenmesi, ağır metal kirliliğinin çevresel etkileri ile metalin alınımının, biyotransformasyonun ve kontaminasyonunun değerlendirilmesi bakımından önem taşımaktadır (Wicklund ve ark. 1988). Metal etkisindeki dokularda protein sentezin deriştği, bu derişim nedenlerinden birinin metal bağlayıcı proteinler olduğu bilinmektedir (Cicik ve Erdem 1992).

Carassius auratus türünde Cd LC₅₀ değerleri, 96 saat için 2.13, ve 240 saat için 1.78 mg Cd/L olarak hesaplanmıştır (McCarty ve ark., 1978). Bir başka araştırmada ise aynı türün statik deney koşullarında 25 °C 'de 7.5 pH değerinde 24 saatlik için 3.46, 96 saat için 2.34 olarak belirlenmiştir (Donson, 1992).

Bu araştırmada toksik etkili Cd ile eser miktarda gereksinim duyulan Cu'nun belirlenen derişimdeki karışımının etkisinde 10 gün süreyle tutulan *C. carassius*'un metabolik bakımdan aktif karaciğer, solungaç ve kas gibi doku ve organlarındaki birikimi ile karaciğer dokusundaki total protein miktarı üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod

Araştırmada ortalama 120.408 ±1,764 mm total boy ve 39.827 ±15.287g ağırlığa sahip *Carassius carassius* (L.) türü balıklar kullanılmıştır. Balıklar, Gala gölünden, deneylerin yürütüleceği kontrollü ortam şartlarına sahip laboratuara getirilmiş ve her biri 50x40x100 cm boyutlarında olan 10 adet stok cam akvaryum içerisinde iki hafta süreyle bekletilerek ortam şartlarına uyumları sağlanmıştır.

Deneylerin yürütüldüğü laboratuvar 20±1°C durağan sıcaklığa sahip olup, deneyler süresince 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık fotoperiyodu uygulanmıştır. Akvaryum ortamının fiziksel ve kimyasal özellikleri enstrümental yöntemlerle her 2 günde bir belirlenmiş ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

- pH: 8.38 ±0.03
- Çözünmüş oksijen: 12.102 ±0.083 mg/L
- Toplam sertlik: 660.714 ±2.966 µhos

Deneylerde her biri 50x40x100 cm boyutlarında olan toplam 10 cam akvaryum kullanılmış ve akvaryumlar ikişerli 2 gruplara ayrılmıştır. Her bir akvaryuma 100 L aktif karbondan geçmiş çeşme suyu ile 0.1, 0.5 ve 1.0 ppm konsantrasyonlarda Cu ve aynı konsantrasyonlarda Cd çözeltileri konmuştur. Etkileşim grubuna ise her iki metalin aynı dozları uygulanmıştır. Gruplardaki diğer akvaryumlara ise belirtilen hacim ve özellikteki çeşme suyu doldurularak kontrol grubu olarak incelenmiştir. Deney ve kontrol akvaryumlarının her birine 6 tane balık konmuştur.

Akvaryumları merkezi havalandırma sistemi havalandırılmıştır. Deney çözeltilerinin hazırlanmasında Cu için $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Merck) tuzu, Cd için $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Merck) tuzları kullanılmıştır. Statik deney koşullarında zaman içerisinde akvaryumlardaki metal çözeltilerinin derişiminde değişimler olabileceğinden, deney çözeltileri her iki günde bir taze olarak hazırlanan stok çözeltilerden uygun seyreltmeler yapılarak değiştirilip ortam yenilenmiştir. Deney akvaryumları özel olarak dizayn edildiğinden artan yem atıklar alt kısımdaki tahliye borusuyla ortamdan uzaklaştırılmıştır. Deney süresince balıklar, 2 günde bir defa pelet balık yemi (BioAqua Pınar Yem) ile beslenmiştir. Belirlenen 10 günlük deney süresi sonunda her bir akvaryumdaki 6 balık çıkartılarak MS 222 (tricane methanesulphonate, 75 mg/L) anestezik maddesi ile bayılmıştır.

Cd, Cu ve protein analizleri için solungaç, kas, ve karaciğer dokuları çıkarılarak polietilen tüplere aktarılmıştır. Solungaç, kas ve karaciğer dokularındaki metal analizinde tüplere 1:1 oranında $\text{HNO}_3 \cdot \text{HClO}_4$ karışımından toplam 4 ml eklenmiş, 120°C 'ye ayarlı otoklavda 2 saat süreyle yakılmıştır (Güner 2007). Yakılan doku örneklerindeki Cd ve Cu derişimi, standart stok çözeltilerle kalibre edilmiş Unicom (960) Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi kullanılarak saptanmıştır.

Karaciğer dokularında protein miktarını belirlemek amacıyla doku önce fosfat tampounda 2000 rpm. homojene edilmiş ve Folin-Lowry yöntemi kullanılarak protein tayini yapılmıştır (Lowry 1951). Deney verilerinin istatistik analizinde SPSS programı ile ANOVA, SNK (Student-Newman-Keuls) testleri kullanılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Subletal derişimdeki Cd ve Cu ile etkileşimlerinde 10 gün süreyle bırakılan *C. carassius*'un karaciğer, solungaç ve kas dokularında biriken Cd ve Cu miktarı Şekil 1, 2, 3 ve 4' de gösterilmiştir. Cd ve Cu-Cd karışımının incelendiği gruptaki kontrol

balıklarının belirlenen doku ve organlarında, Cd miktarı, Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresinin duyarlılık düzeyinin altında olduğu için belirlenememiştir.

Kontrol grubuna göre tüm Cu konsantrasyonlarında solungaç, kas ve karaciğer dokularında Cu birikimi belirlenmiştir. Cu incelenen dokular içinde en fazla solungaç dokusunda biriktiği en düşük birikimin ise kas dokusunda olduğu gözlenmiştir (Şekil 1).

Farklı dozlardaki Cd'a maruz bırakılan *C. Carassius* artan dozlar ile karaciğer, kas ve solungaç dokularında artan miktarlarda Cd birikiminin olduğu gözlenmiştir (Şekil 2). Cd en fazla solungaç biriktiği en az düşük birikim ise kas dokusunda olduğu belirlenmiştir.

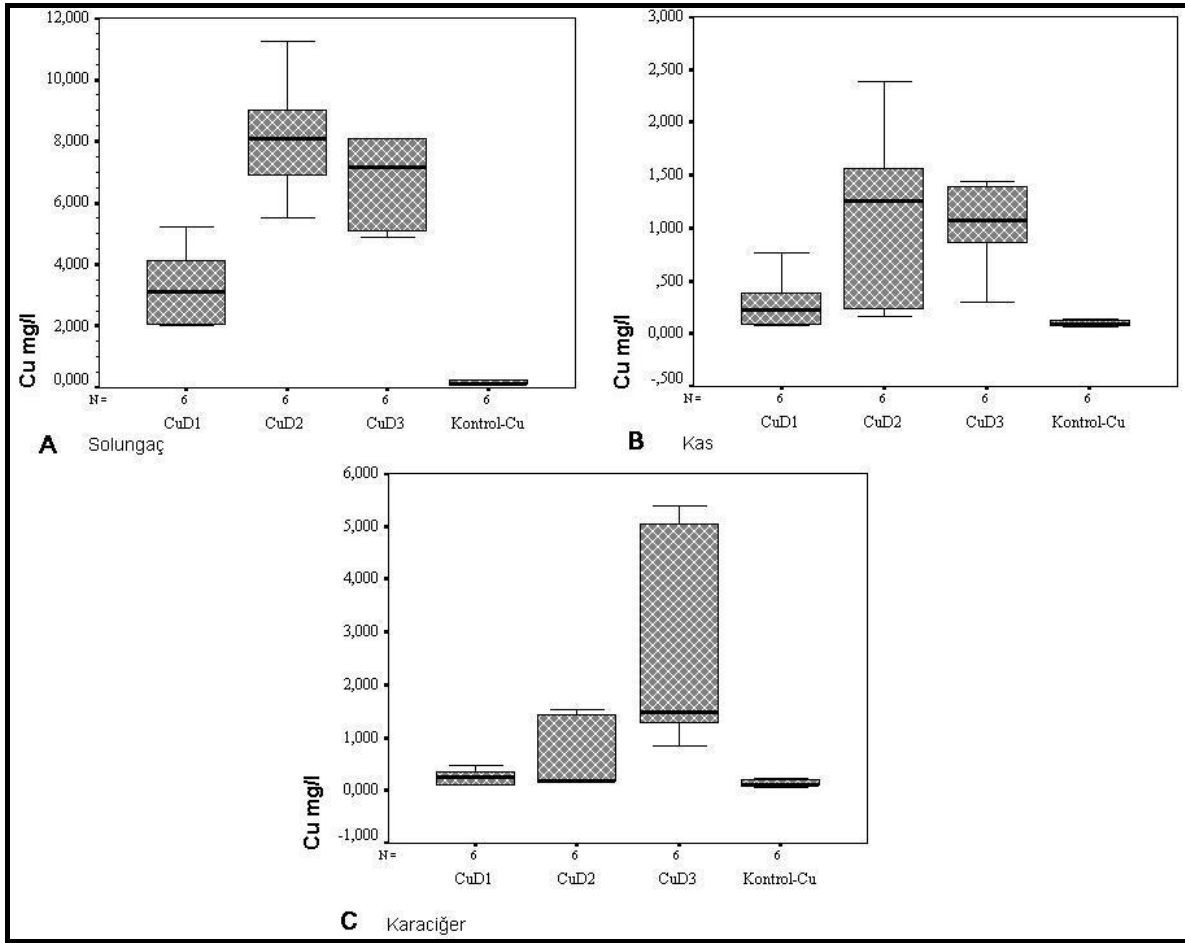
Cd ve Cu birlikte etkisine bırakılan *C. Carassius* solungaç ve kas dokusunda en yüksek doz hariç artan dozlar ile daha fazla miktarda Cd birikimi varken, karaciğer dokusunda önce azalma daha sonra artış gözlemiştir (Şekil 3).

Etkileşimde *C. Carassius* solungaç dokusu dışındaki tüm dozlarda artan Cu miktarı ile biriken Cu miktarının artış gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4).

Farklı dozlarda Cd ve Cu maruz bırakılan *C. Carassius* karaciğer dokusundaki total protein miktarı şekil 5 verilmiştir.

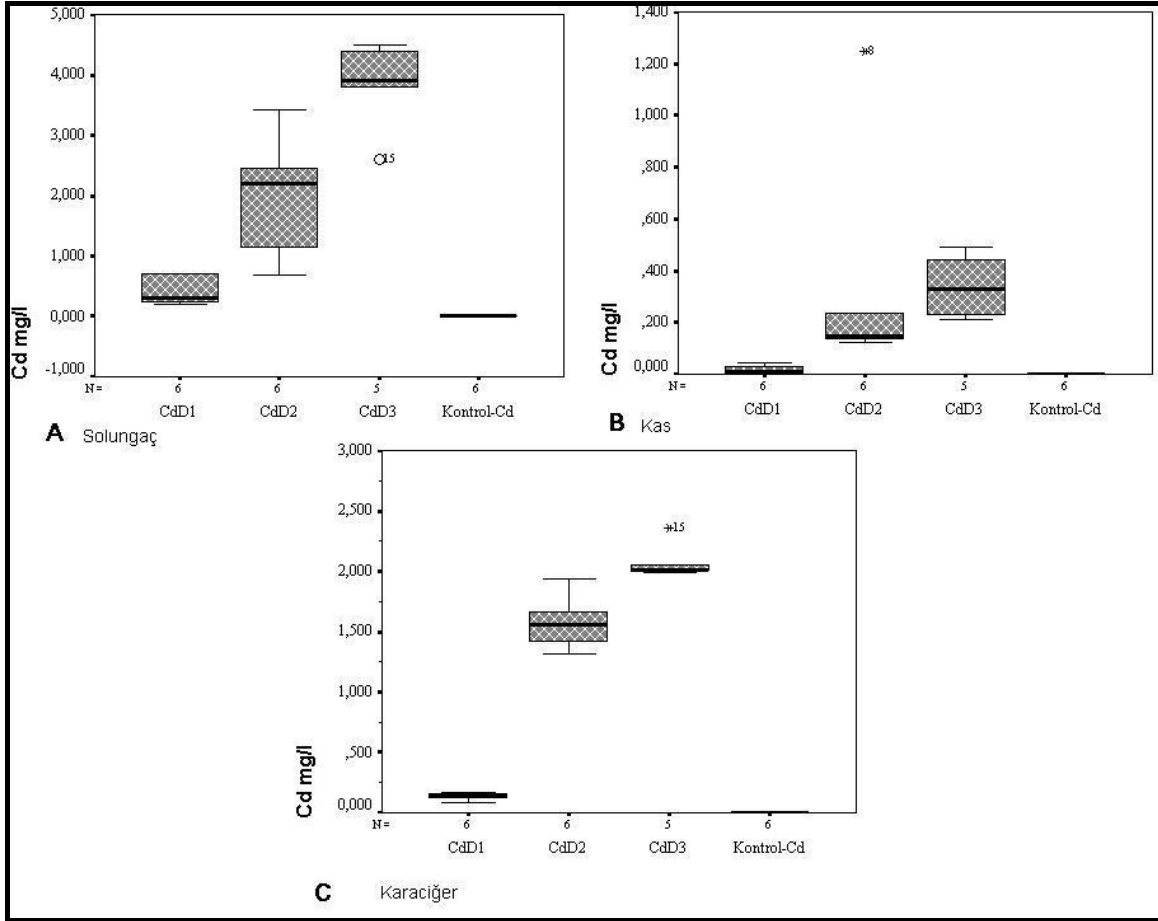
Cd ile Cu birlikte etkisinin karaciğer total protein miktarı üzerine etkisi Şekil 6' da verilmiştir.

Deneyde kullanılan tüm dozların karaciğer total protein miktarı üzerindeki etkisinin istatistiki olarak önemli olup olmadığı Tablo 1'de verilmiştir.



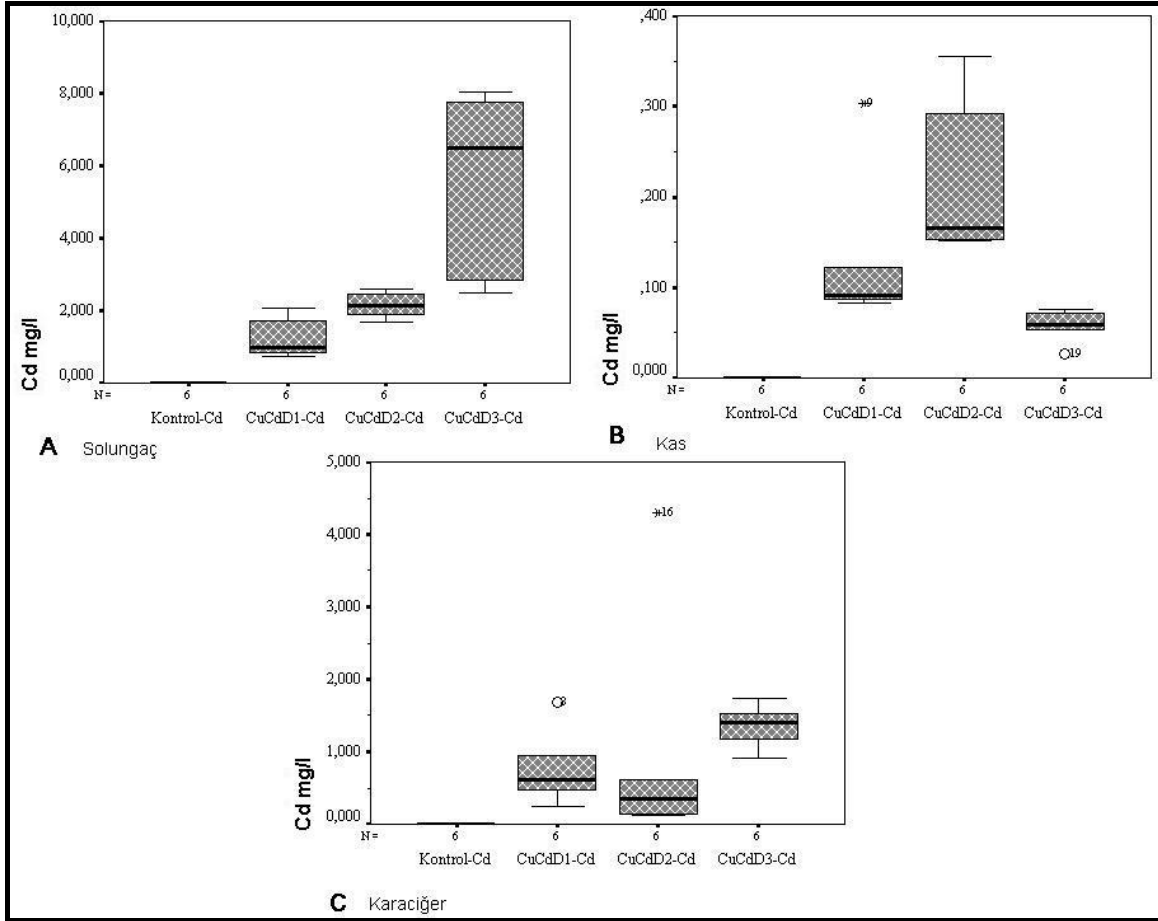
Şekil 1. Farklı Cu konsantrasyonlarında *Carassius auratus* 'un solungaç, kas ve karaciğerinde Cu birikimi (A solungaç, B Kas, C Karaciğer).

Fig 1. Accumulation of Cu at different tissues on different Cu concentrations at *C. carassius*. (A gill, B, muscle, C liver).



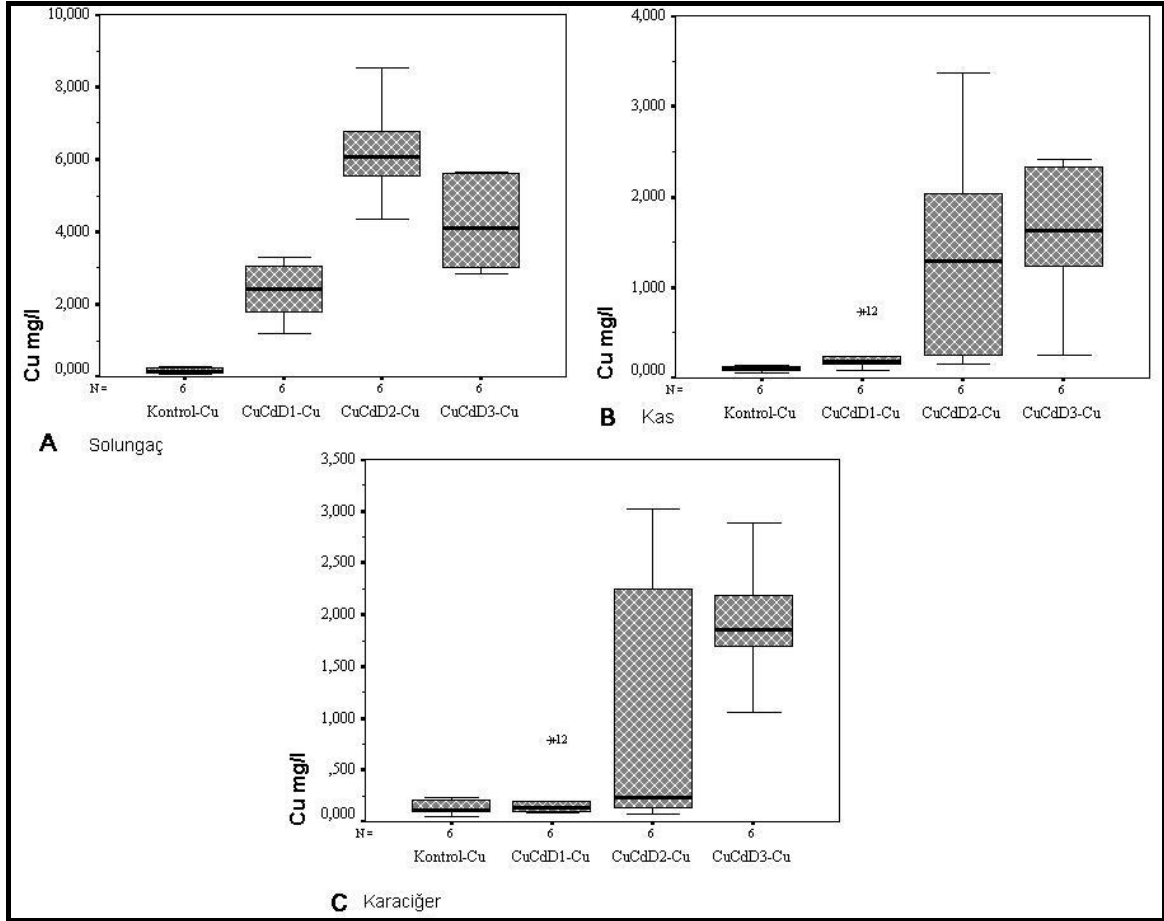
Şekil 2. Farklı Cd konsantrasyonlarında *Carassius auratus* 'un solungaç, kas ve karaciğerinde Cd birikimi (A solungaç, B Kas, C Karaciğer).

Fig 2. Accumulation of Cd at different tissues on different Cd concentrations at *C. carassius*. (A gill, B, muscle, C liver).



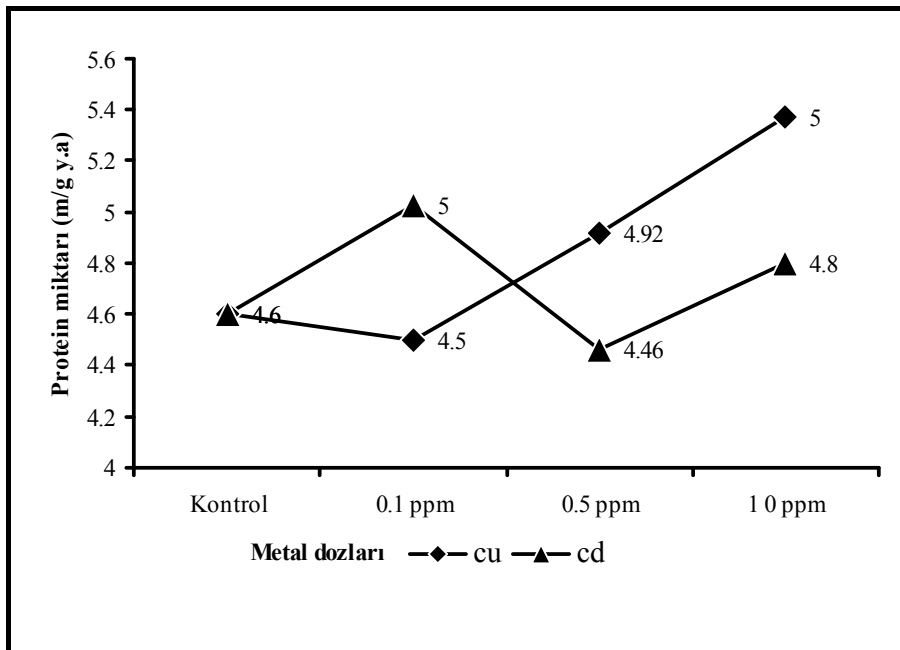
Şekil 3. Farklı Cd, Cu konsantrasyonlarında *Carassius auratus* 'un solungaç, kas ve karaciğerinde Cd birikimi (A Solungaç, B Kas, C Karaciğer).

Fig 3. Accumulation of Cu-Cd at different tissues on different Cd concentrations at *C. carassius*. (A gill, B, muscle, C liver).



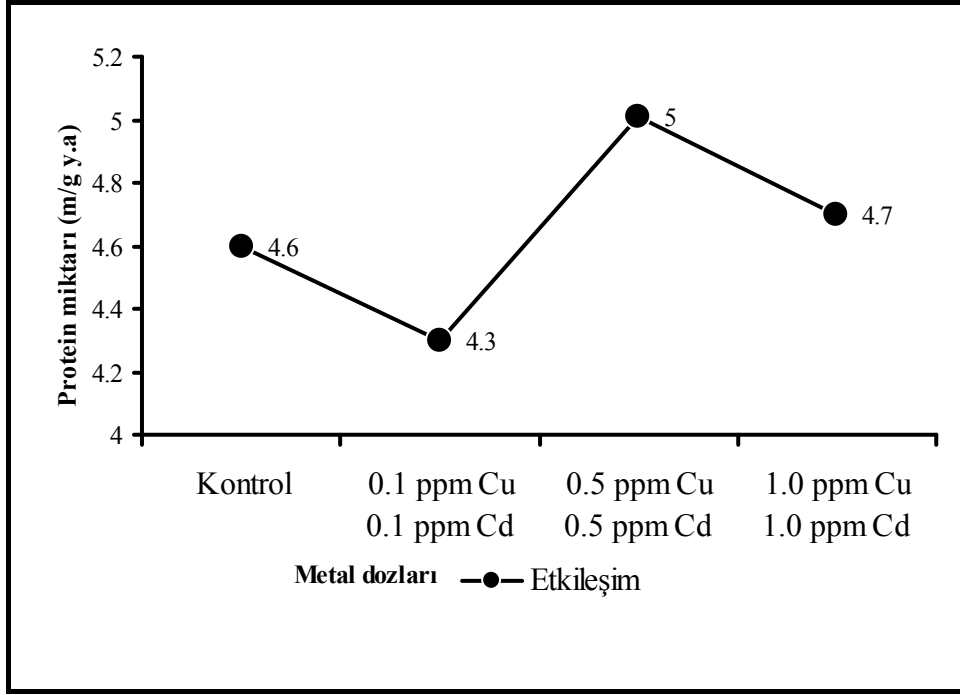
Şekil 4. Farklı Cd, Cu konsantrasyonlarında *Carassius auratus* 'un solungaç, kas ve karaciğerinde Cu birikimi (A Solungaç, B Kas, C Karaciğer).

Fig 4. Accumulation of Cu-Cd at different tissues on different Cd concentrations at *C. carassius*. (A gill, B, muscle, C liver).



Şekil 5. Farklı Cu ve Cd ile etkileşim konsantrasyonlarında *C. carassius*'un karaciğer dokusunda protein miktarı.

Fig 5. Total liver protein level of *C. carassius* at different Cu and Cd concentrations.



Şekil 6. Cu-Cd etkileşimde *C. carassius*'un karaciğer dokusundaki protein miktarı.
Fig 6. Total Liver protein level of *C. carassius* Cu- Cd interaction concentrations.

Tablo 1. Farklı dozlarda Cd ve Cu'a maruz bırakılan *C. Carassius*'un karaciğer dokusundaki protein miktarı.

Table 1. Total Liver protein level of *C. carassius* exposed to different concentration of Cd, Cu and interaction.

Doz	Minimum	Maksimum	Ortalama	Std. hata	SNK
0.1 ppm Cu*	4.20	4.95	4.508	0.1203	b
0.5 ppm Cu	2.88	4.92	3.768	0.2973	a
1.0 ppm Cu*	4.73	6.04	5.372	0.2151	c
0.1 ppm Cd	4.04	5.95	5.030	0.2803	c
0.5 ppm Cd*	3.88	5.09	4.460	0.1763	b
1.0 ppm Cd	4.02	6.33	4.852	0.3560	c
0.1+0.1 Cu Cd*	4.04	4.76	4.368	0.1129	b
0.5+0.5 Cu Cd	3.97	5.85	5.017	0.2877	c
1.0+1.0 Cu Cd*	4.30	5.54	4.785	0.1868	c
Kontrol	3.80	5.23	4.605	0.0888	

[*kontrol grubuna göre statiksel olarak farklı ($P < 0.05$), SNK; a,b ve c harfleri Cd, Cu ile CuCd karışımı arasındaki ayrımı göstermektedir.]

Bu araştırmada 10 gün süreyle Cd, Cu ve Cd-Cu karışımının etkisinde kalan balıklarda, deney süresince mortalite gözlenmemiştir. İncelenen ağır metallerin tek başına ve birlikte Cu kısa süreli (10 gün) etkisinin mortaliteye neden olmaması çeşitli uyum mekanizmaları ile açıklanabilir. Bu mekanizmaların başında karaciğerde gerçekleşen detoksifikasyon ve

metallothionein gibi metal bağlayıcı proteinlerin sentezi gelmektedir (Martinez ve ark. 1991).

Cd karaciğer ve solungaç gibi metabolik aktivitesi yüksek dokularda daha fazla biriktiği belirlenmiştir (Kalay 1996, Kargın ve Coğun 1999). Bu durum, söz konusu dokuların düşük molekül ağırlıklı ve metal bağlamada etkin metallothionein (MT) proteinleri içermesi

(Wicklund ve ark. 1988), ayrıca kadmiyum ve benzeri metallerin etkisinde MT sentez düzeylerinin artış göstermesi (Kaly 1996) ile açıklanmaktadır.

Balıklarda ağır metal gibi toksik maddelerin atılım, depolama ve detoksifikasyon mekanizmaları, alınımı karşılamadığı durumlarda ağır metallerin doku ve organlarda birikimine neden olmaktadır. Balıklarda ağır metal birikimi doku ve organlar arasında farklılık göstermektedir. Ağır metaller, subletal ortam derişimlerinde etki süresinin başlangıcında öncelikle solungaç dokusunda birirmektedir (Flos ve ark. 1987). *Oreochromis mossambicus* (Wong ve Wong 2000), *Oncorhynchus mykiss* (Hollis ve ark. 1999) ve *Cyprinus carpio* (Desmet ve Blust 2001)'da Cd'un letal olmayan ortam derişimlerinin kısa süreli etkisinde en fazla solungaç dokusunda biriktiği belirlenmiştir. *Tilapia nilotica* ile yapılan bir araştırmada da Cd'un 0.5 ve 1.0 ppm'lik ortam derişimlerinin 10 gün süreyle etkisinde diğer doku ve organlara göre en fazla solungaç dokusunda biriktiği belirlenmiştir (Kalay 1996). Kısa süreli Cd maruz kalan solungaç dokusundaki Cd birikimi, balıklarda solungaçların doğrudan doğruya ortama etkileşim halinde olmasından ve glikoprotein içeriği yüksek mukusdaki aktif grupların metali bağlamasından kaynaklanmış olabilir.

Solungaç dokusundaki ağır metal birikiminin mortaliteye neden olmaması durumunda, etkide kalma süresinin uzaması ile düştüğü saptanmıştır (Kalay 1996). *C. carpio*'da 29 günlük etki süresinde en fazla Cd birikimi solungaç dokusuna oranla böbrek ve karaciğerde meydana gelmiştir (DeSmet ve Blust 2001). *Salmo gairdneri*'de Cd'un subletal derişimlerinin kronik etkisinde, metalin %90'dan fazlası böbrek ve karaciğer gibi metabolik bakımdan aktif doku ve organlarda birikmiştir (Thomas ve ark. 1985). *C. carassius* ile yapılan bu araştırmada da salt Cd etkisinde metalin solungaç dokusundan sonra en fazla böbrek ve karaciğerde biriktiği belirlenmiştir. Etkide kalma süresine bağlı olarak Cd'un böbrek ve karaciğerde yüksek derişimde birikimi, plazmada amino asit ve albumin gibi proteinlere bağlı Cd'un detoksifiye edilmek üzere karaciğere, atılım için böbreğe taşınmasından kaynaklanabilir.

Balıklarda kas dokusu, Cd birikimi bakımından etkin bir doku olmamasına rağmen

balığın besin olarak tüketilebilir kısmını oluşturması ve insan sağlığını yakından ilgilendirmesi nedeniyle kas dokusundaki metal birikiminin incelendiği çok sayıda araştırma bulunmaktadır (DeContoCinier ve ark. 1999). *O. mykiss* (Melgar ve ark. 1997) ve *T. nilotica*'da (Erdem, 1990) Cd'un kas dokusundaki birikiminin çok düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir. Bu araştırmada da salt Cd ve Cd-Cu karışımının 15 gün süreyle etkisinde Cd en düşük düzeyde kasta birikmiştir. DeContoCinier ve ark., (1999) *C. carpio*'nun kas dokusunda tüketim bakımından tehlikeli düzeyde Cd birikiminin, etkide kalma süresinin uzaması, karaciğer ile böbreğin taşıma kapasitesini aşması durumunda meydana geldiğini belirlemiştir.

Balıkların doku ve organlarındaki ağır metal birikimi, metaller arasındaki etkileşime bağlı olarak da değişim göstermektedir. *Paracheridon innesi*'de kurşun ve Cu'nun subletal derişimlerdeki karışımının solungaç dokusundaki Cu birikimini, salt Cu etkisine oranla arttırdığı belirlenmiştir (Tao ve ark. 1999). *T. nilotica*'da Cd-Zn karışımının 10 gün süreyle etkisi, karaciğer, solungaç ve kas dokularında metallerin tek tek etkisinde saptanan Cd birikimini azaltırken, Zn birikimini arttırmıştır (Kargin ve Çoğun 1999). *C. carpio*'da Cu-Zn karışımının (Cicik 2003), *T. nilotica*'da Cu-Cd karışımının (Sağlamtimur ve ark. 2003) karaciğer, solungaç ve kas dokularındaki Cu birikimini salt Cu etkisindeki birikime oranla düşürdüğü saptanmıştır. *C. Carassius* ile yapılan bu araştırmada da Cd-Cu karışımının incelenen doku ve organlardaki Cd birikimini azaltıcı etki yaptığı belirlenmiştir.

Metal etkileşiminde birikim ve toksik etkiler, organizmaya bağlı olarak değişim göstermektedir. *Mytilus edulis planulatus*'da Cu-Cd karışımı doku ve organlardaki Cd birikimini azaltırken (Eliot ve ark. 1986) *Oreochromis mossambicus*'da arttırıcı etki yapmıştır (Pelgrom ve ark. 1995).

Cd birikiminde karaciğer, solungaç ve kas dokularındaki metal bağlayıcı proteinlerin Cd'u bağlayarak depolamasından kaynaklanabilir. Metal etkileşiminin, Cd birikimini azaltıcı etkisi ise Cu'nun solungaçlardan Cd alınımını engellemesi, Cd'un karaciğerden diğer organlara transferini hızlandırması yada Cu'nun MT gibi metal bağlayıcı proteinlerdeki bağlanma ve solungaçlardaki alımın bölgelerinde Cd ile rekabet etmesi ile açıklanabilir. Cd-Cu karışı-

mının, salt Cd etkisinde kas dokusundaki metal birikim düzeyinde herhangi bir değişime neden olmaması, kas dokusunun metal birikiminde aktif bir doku olmamasından yada belirlenen sürenin değişikliğe neden olabilecek kadar uzun olmamasından kaynaklanabilir.

Ağır metaller, metabolik faaliyet hızına göre total protein miktarını değiştirmektedir örneğin Cu etkisinde kalan *T. nilotica*'da karaciğer dokusu total protein derişimi artarken, metabolik hızı daha düşük olan kas dokusu total protein derişiminin düştüğü belirlenmiştir. (Cicik ve Erdem 1992). Benzer sonuçlar Cd etkisinde kalan *Tilapia zillii*'nin solungaç ve karaciğer dokularında da belirlenmiştir. (Kargın 1996). *Poecilia reticulata* gelişme döneminin başından itibaren uzun süre Cd etkisinde tutulduğunda proteinin diğer makromoleküllere oranı artış göstermiştir (Miliou ve ark 1998). Zn'un etkisinde kalan *Tilapia zillii* ve *Clarias lazera*'da karaciğer dokusu ile serum total protein derişimi artış göstermiş olup, bu durum metalin etkisinde MT sentez düzeyinin artmasından kaynaklanmaktadır (Hilmy ve ark. 1985). Cd, *Mugil cephalus*'da karaciğer ve solungaç dokuları ile serum protein derişimini artırmıştır (Hilmy ve ark 1985). Cd, Cu ve krom metallerinin etkisinde kalan *Clarias batrachus*'da kas dokusu total protein derişiminde düşüş gösterirken karaciğer ve böbrek dokularında total protein derişimi artış göstermiştir (Jana ve Sahane 1988). Buna karşın *T. nilotica* kısa süre ile (7 gün) 0,32, 0,64, 1,28 ve 2,56 ppm Cd derişimlerinin etkisinde tutulduğunda karaciğer dokusu total protein düzeyinin düşüş gösterdiği belirlenmiştir. (Almadia ve ark 2001).

Sonuç

Bu çalışmada kontrol grubuna göre 0.1 ve 1.0 ppm Cd derişiminin ile 0.5 ve 1.0 ppm Cu derişimlerinin karaciğerdeki total protein miktarının istatistiki olarak önemli derecede artırdığı belirlenmiştir (tablo 1). Etkileşimde ise 0.5+0.5 ppm Cu-Cd ile 1.0+1.0 Cd-Cu derişimlerinin karaciğerde total protein miktarını artırdığı belirlenmiştir. Metabolik olarak aktif olan karaciğerde total protein derişiminin artması, Cd birikim düzeyine bağlı olarak bu dokularda MT ve MT dışı proteinlerin sentezindeki artış ile açıklanabilir.

Kaynaklar

- Almedia, J.A., Novelli, E.L.B., Silva, M.D.P., Junior, R.A. (2001). Environmental Cadmium Exposure and Metabolic Responses of the Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Environmental Pollution*, **114**: 169-175.
- Beaumont, M.W., Butler, P.J, Taylor, E.W. (2000). Exposure of Brown Trout *Salmo trutta*, to a Sublethal Concentration of Copper in Soft Acidic Water, Effects upon Muscle Metabolism and Membrane Potential. *Aquatic Toxicology*, **51**: 259-272.
- Cicik, B. (2003). Bakır Çinko Etkileşiminin Sazan (*Cyprinus carpio* L.)'nın Karaciğer, Solungaç ve Kas Dokularındaki Metal Birikimi Üzerine Etkileri. *Ekoloji Dergisi* **48** (12): 32-36.
- Cicik, B., Erdem, C. (1992). *Tilapia nilotica*'da Bakırın Karaciğer ve Kas Dokularındaki Nicel Protein Derişimlerine Etkileri. *Biyokimya Dergisi*, **17**: 51-64.
- DeConto-Cinier, C., Petit-Ramel, M., Faure, R., Garin, D., Bouvet, Y. (1999). Kinetics of Cadmium Accumulation and Elimination in Carp *Cyprinus carpio* Tissues. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **122**: 345-352.
- DeSmet, H., Blust, R. (2001). Stress Responses and Changes in Protein Metabolism in Carp *Cyprinus carpio* during Cadmium Exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **48**: 225-262.
- Donson, S. 1992. Cadmium: environmental aspects (Environmental health criteria); 135, *WHO Geneva*, ISBN:92 4 157135 7 p 91.
- Egemen, Ö., Sunlu, U. (1999). Su Kalitesi. III. Baskı, Ege Üniversitesi Basımevi, Izmir.
- Eliot, N.G., Swain, R., Ritz, D.A. (1986) Metal Interaction during Accumulation by the Mussel *Mytilus edulis planulatus*. *Marine Biology*, **93**: 395-399.
- Erdem, C. (1990). Cadmium Accumulation in Liver, Spleen, Gill and Muscle Tissues of *Tilapia nilotica* (L.). *Biyokimya Dergisi* **15**: 13-22.

- Flos, R., Tort, L., Balasch, J. (1987). Effects of Zinc Sulphate on Haematological Parameters in the Dogfish *Scyliorhinus canicula* and Influences of MS-222. *Marine Environmental Research*, **21**: 289-298.
- Güner, U. (2007). Freshwater crayfish *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) accumulates and depurates copper, *Environmental Monitoring and Assessment*, DOI:10.1007/s10661-006-9590-1.
- Heath, A.G. (1995). *Water Pollution and Fish Physiology*. 2nd Edition, CRC Press, New York.
- Hilmy, A.M., ElDDomiatty, N.A., Daabes, A.Y., Latife, H.A.A. (1987). Some Physiological and Biochemical Indices of Zinc Toxicity in Two Freshwater Fishes, *Clarias lazera* and *Tilapia zilli*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **87**: 297-301.
- Hilmy, A.M., Shabana, M.B., Daabes, A.Y. (1985). Effects of Cadmium Toxicity upon the in Vivo and in Vitro Activity of Proteins and Five Enzymes in Blood Serum and Tissue Homogenates of *Mugil cephalis*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **81**: 145-153.
- Hodson, P.V. (1988). The Effect of Metal Metabolism on Uptake, Disposition and Toxicity in Fish. *Aquatic Toxicology*, **11**: 3-18.
- Hollis, L., McGeer, J.C., McDonald, D.G., Wood, C.M. (1999). Cadmium Accumulation Gill Cd Binding, Acclimation and Physiological Effects during Long-Term Sublethal Cd Exposure in Rainbow Trout. *Aquatic Toxicology*, **46**: 101-119.
- Jana, S., Sahana, S.S. (1988). Effects of Copper, Cadmium and Chromium Cations on the Freshwater Fish *Clarias batracus* L. *Physiology. Bohemos.*, **37**: 79-82.
- Johnson, I. (1988). The Effects of Combinations of Heavy Metals, Hypoxia and Salinity on Ion Regulation in *Crangon crangon* (L.) and *Carcinus maenas* (L.). *Comparative Biochemistry and Physiology*, **91C** (2): 459-463.
- Kalay, M. (1996). *Tilapia nilotica*'da Karaciğer, Dalak, Böbrek, Kas ve Solungaç Dokularındaki Cd Birikiminin Total Protein Düzeyi ve iyon Dağılımı Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Kargin, F., Çoğun, H. (1999). Metal Interaction during Accumulation and Elimination of Zinc and Cadmium in Tissues of the Freshwater Fish *Tilapia nilotica*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **63**: 511-519.
- Kargin, F. (1996). Elimination of Cadmium from Cd-Contaminated *Tilapia zilli* in Media Containing EDTA and Freshwater: Changes in Protein Levels. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **57**: 211-216.
- Lowry, O.H. (1951) Lowry method, a modification of the Folin method based on the presence of tyrosine and tryptophan in proteins. *Journal of Biological Chemistry*, **193**: 266-266.
- Martinez, M., DelRamo, J., Torreblanca, D.M., Pastor, A. (1991). Presence of Cd Binding Proteins in Pre-exposed and not Pre-exposed Cd Brine Shrimp *Artemia*. *Toxicol. Environ. Chemist.* **31**: 417-424.
- McCarty, L.S., Henry, J.A.C., Houston, A.H. (1978). Toxicity of cadmium to goldfish, *Carassius auratus*, in hard, and soft water, *Biological Conservation*, **35** (1): 35-42.
- Melgar, M.J., Perez, M., Garcia, M.A., Alonso, J., Miquez, B. (1997). The Toxic and Accumulative Effects of Short-Term Exposure to Cadmium in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Veterinary and Human Toxicology*, **39**: 79-83.
- Miliou, H., Zaboukas, N., Apostolopoulou, M.M. (1998). Biochemical Composition, Growth, and Survival of the Guppy, *Poecilia reticulata*, during Chronic Sublethal Exposure to Cadmium. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **35**: 58-63.
- Muramoto, S. (1983). Elimination of Copper from Cu-Contaminated Fish by Long-Term Exposure to EDTA and Freshwater. *Journal of Environmental Science and Health*, **18**: 455-461.

- Pagenkopf, G.K. (1983). Gill Surface Interaction Model for Trace-Metal Toxicity to Fishes. Role of Complexation, pH and Water Hardness. *Environmental Science and Technology*, **17**: 342-347.
- Pelgrom, S.M.G.J., Lamers, L.P.M., Lock, R.A.C., Balm, P.H.M., Wendelaar-Bonga, S.E. (1995). Interactions between Copper and Cadmium Modify Metal Organ Distribution in Mature *Tilapia Oreochromis mossambicus*. *Environmental Pollution*, **90**: 415-428.
- Ricard, A.C., Daniel, C., Anderson, P., Hontela, A. (1998). Effects of Subchronic Exposure to Cadmium Chloride on Endocrine and Metabolic Functions in Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **34**: 377-381.
- Sağlamtimur, B., Cıçık, B., Erdem, C. (2003): Farklı Ortam Derişimlerinin Etkisinde Bakır ve Bakır+Cd Karışımının Tatlısu Çipurası'nın Solungaç, Karaciğer, Böbrek ve Kas Dokularındaki Bakır Birikimi Üzerine Etkileri. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **27**: 813-820.
- Tao, S., Liang, T., Cao, J., Dawson, R.W., Liu, C. (1999). Synergistic Effect of Copper and Lead Uptake by Fish. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **44**: 190-195.
- Thomas, D.G., Brown, M.W., Shurben, D., Solbe, J.F.D.G., Cryer, A., Kay, J. (1985). A Comparison of the Sequestration of Cadmium and Zinc in the Tissues of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) Following Exposure to the Metals. Singly or in Combination. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **82C**: 55-62.
- Tort, L., Torres, P. (1988). The Effects of Sublethal Concentrations of Cadmium on Haematological Parameters in the Dogfish, *Scyliorhinus canicula*. *Journal of Fish Biology*, **32**: 277-282.
- Wicklund, A., Runn, P., Norrgren, L. (1988). Cadmium and Zinc Interaction in Fish; Effects of Zinc on the Uptake Organ Distribution and Elimination of 109 Cd in the Zebrafish, *Brachydanio rerio*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **17**: 345-354.
- Wong, C.K., Wong, M.H. (2000). Morphological Changes in the Gills of *Tilapia (Oreochromis mossambicus)* to Ambient Cd Exposure. *Aquatic Toxicology*, **48**: 517-527.