

Oreochromis niloticus'da Bakır Birikiminde Kalsiyum ve Zeolitin

Etkileri

Hikmet Y. ÇOĞUN¹, İpek Çimrin REYHAN²

¹ Çukurova Üniversitesi, Ceyhan Veteriner Fakültesi, Fizyoloji ABD, Ceyhan, Adana, TÜRKİYE

² Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kilis, TÜRKİYE

Sorumlu Yazar: hcogun@cu.edu.tr

Geliş Tarihi : 11.01.2016

Kabul Tarihi: 04.04.2016

Özet

Bu araştırmada kalsiyum ve zeolitin *Oreochromis niloticus*'un karaciğer, solungaç ve kas dokularında bakır birikimi üzerine etkileri incelenmiştir. Balıklar 5, 10 ve 15 gün sürelerle 1.0 mg/L Cu, 1.0 mg/L Cu+1.0 mg/L Ca, 1.0 mg/L Cu+0.1 g/L Zeolite karışımının etkisine bırakılmış, dokularda bakır birikimi ICP-MS Spektrometresi ile ölçülmüştür. Çalışılan dokularda bakır derişimi sürenin uzamasıyla artmıştır. En yüksek bakır birikimi karaciğer dokusunda bulunmuş, bunu solungaç ve kas dokusu izlemiştir. Etkide kalınan tüm sürelerde, *O. niloticus*'un dokularında bakır birikimi kalsiyum ve zeolitin varlığında azalmıştır. Tüm karışımlarda kalsiyum ve zeolit *O. niloticus*'un karaciğer ve solungaç dokularında bakır birikimini istatistiksel olarak önemli ölçüde azaltmıştır. Çalışma sonuçları göstermiştir ki bakır birikimi zeolit ve kalsiyum tarafından azaltılmış ve zeolit kalsiyumdan daha önemli koruyucu etki yapmıştır.

Anahtar sözcükler: Bakır, Birikim, Kalsiyum, Zeolit, *Oreochromis niloticus*

The Effects of Calcium and Zeolite on Copper Accumulation in *Oreochromis niloticus*

Abstract

In this study, effects of calcium and zeolite on the accumulation of copper in liver, gill and muscle of *Oreochromis niloticus* were investigated. The fish were exposed to 1.0 mg/L Cu, 1.0 mg/L Cu+1.0 mg/L Ca, 1.0 mg/L Cu+0.1 g/L Zeolite mixtures for 5, 10 and 15 days, copper accumulation in tissues were measured by ICP-MS. Spectrophotometry. Copper accumulation increased with increasing periods of exposure tissues studied. Highest accumulation of copper occurred in the liver followed by gill and muscle. In all exposure period, accumulation of copper in whole tissues of *O. niloticus* decreased statistically significant in the presence of calcium and zeolite. In both mixed exposure concentrations, calcium and zeolite significantly reduced the accumulation of copper in the kidney, gill and liver of *O. niloticus*. The result of this study demonstrated that the accumulation of copper was decreased by calcium and zeolite, and that the protective effects of zeolite are more important than calcium.

Keywords: Copper, Accumulation, Calcium, Zeolite, *Oreochromis niloticus*

GİRİŞ

Bakır bir iz element olarak sınıflandırılmaktadır. Bakır tüm canlı organizmaların gereksinim duyduğu bir elementtir (Arrelano ve ark., 1999). Bakır hemen hemen tüm sularda eser düzeyde bulunmaktadır. Nüfus artışına bağlı ve endüstriyel gelişimin bir sonucu olarak yaygın bir şekilde kullanılan bakır, su ortamının kirlenmesine ve dolayısıyla ekosistemdeki canlılarda birçok hasarlara neden olmaktadır (Munoz ve ark., 1991; Matyar ve ark., 2009; Sipahi ve ark., 2013). Bakırın subletal derişimlerinin balıklarda büyüme, gelişme ve üreme üzerine olumsuz etkiler yaptığı (Buckley ve ark., 1982; Hilmy ve ark., 1985) ve ayrıca kan biyokimyasında değişikliklere neden olduğu bir çok araştırmacı tarafından belirtilmiştir (Dethloff ve ark., 1999; Fırat ve ark., 2011; Çoğun ve ark., 2012).

Kalsiyumun suyun sertlik kalitesini belirtmede ve canlı organizmada verimliliğin artışında çok önemli bir iyon olduğu belirtilmiştir (Berntssen ve ark., 2003). Genel olarak sucul organizmalarda kalsiyum yapısal, elektriksel iletimde kasların kasılmasında, salgı hücrelerinin sekresyonunda, ekstraselüler protein ve enzimlerde kofaktör olarak rol alan ve intraselüler regülasyon gibi birçok önemli biyolojik işlevleri olan bir iyondur (Hunn, 1985). Su sertliği ağır metalin toksisitesi bakımından önemli role sahiptir. Örneğin gökkuşağı alabalıkları ile yapılan bir çalışmada çinko'nun yumuşak sulardaki toksisitesinin, sert sulara oranla 27 kat daha toksik olduğu saptanmıştır (Bradley ve Sprague, 1985).

Zeolitler alüminyum silikat ve kil mineralleridir. Sularda iyon değiştirme ve katyonları uzaklaştırma yeteneğindedirler (Türkman ve ark., 2001; Babel, 2003). Son zamanlarda yapılan birçok araştırmada kurşunun (Jain, 1999; Mishra ve Jain, 2009; Çoğun ve Şahin 2012), bakırın (James ve ark., 1998) sucul ortamda toksisitesinin gideriminde zeolitler kullanılarak laboratuvar çalışmaları yapılmıştır.

Son yıllarda yapılan araştırmalar bize göstermiştir ki kalsiyum ve zeolitin su ortamında bulunması, balıkların metalleri solungaçlardan alınımında rekabete girmiş olması (Hongstrand ve ark.,1995; Hongstrand ve ark., 1998; Spry ve Wood, 1984) zeolitin varlığında ise ağır metallerin iyon yüklerini değiştirebilme yetenekleri ve metalleri bünyesinde tutmasıyla ortamda metalin azalmasına neden olmuştur (James 2000; Mishra ve Jain, 2009; Çoğun ve Şahin 2012).

Bu çalışmada; 5, 10 ve 15 günlük uygulama sürelerinde *Oreochromis niloticus* balıklarında bakır toksisite etkisinin gideriminde, kalsiyum ve zeolit kullanılmıştır. Bakır+kalsiyum ve bakır+zeolit etkisine maruz bırakılan balıkların karaciğer, solungaç ve kas dokularında metal birikimi ile kalsiyum ve zeolit metal toksisitesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOD

Bu araştırmada kullanılan *Oreochromis niloticus*'lar Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi yetiştirme havuzlarından üç ay süre ile 40X100X40 cm boyutlarındaki dokuz (9) stok akvaryum içerisinde laboratuvar koşullarına adaptasyonları sağlanmıştır. *O. niloticus*'lar bu sürenin sonunda uygun boy ve ağırlığa ulaşmıştır.

Deney 5, 15 ve 20 gün sürelerde bakırın 1.0 mg/l derişimi ve bakırın aynı derişimiyle kalsiyum ve zeolit karışımları (1.0 mg/l Cu +1.0 mg/l Ca ve 1.0 mg/l Cu +0.1 g/l Zeolit), maruz bırakılmıştır.

Deneylerde her bir seride 40X100X40 cm boyutlarında olan ve her birinin içerisinde 18 balık bulunan 50'şer litre 4 cam akvaryum kullanılmıştır. Bu akvaryumlardan ilkinde 1.0 mg/l bakır derişimi, ikincisine bakırın+kalsiyum derişimi ve üçüncü akvaryuma bakır+zeolit derişimi (1.0 mg/l Cu +1.0 mg/l Ca ve 1.0 mg/l Cu +0.1 g/l Zeolit) çözeltileri konulmuş, dördüncü akvaryumlar kontrol grubu olmuştur. Deneyler üç tekrarlı ve her tekrarda iki balık örnekleme yapılmıştır.

Kullanılan kalsiyum CaOH olup, Zeolit İstanbul Rota madencilik A.Ş.'den <75 mikron çapında temin edilmiştir. Bakır CuCl₂ (Merck) olup deney boyunca çözeltiler deiyonize su ile taze hazırlanmıştır. Bu hazırlanan çözeltiden uygun derişimler uygun sulandırmalarla akvaryumlara uygulanmıştır.

Her deney süresi bitiminde 2'şer adet balık numunesi alınmış ve balıkların kas, solungaç ve karaciğer dokularının diseksiyonu yapılmıştır. Doku ve organlar etüvde 150 °C 'de 48 saat süreyle kurumaya bırakılmıştır. Kuru ağırlıkları belirlenen doku ve organlar deney tüplerine aktararak 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 120⁰C' de 3 saat süreyle yakılmış, örnekler polietilen tüplere aktarılmış

ve üzerleri deiyonize su ile 5 mL' ye tamamlanarak bakır analizine hazır hale getirilmiştir.

Doku ve organlardaki bakır analizleri Perkin Elmer ICP-MS cihazı kullanılarak tespit edilmiştir. Deneylerden elde edilen verilerin istatistik analizleri hazır bilgisayar Spss 10 paket programı ile ANOVA testleri uygulanarak yapılmıştır.

BULGULAR

Denenen tüm sürelerde (5, 10 ve 15 gün) ortamda bulunan Cu derişimi süreye bağılı olarak doku ve organlardaki Cu birikiminin de arttığı saptanmıştır. Doku ve organlardaki Cu birikimi farklılık göstermektedir. Denenen ortam derişiminde de en yüksek Cu birikimi karaciğerde olmuş bunu solungaç ve kas dokusu izlemiştir (Çizelge 1-3, SNK; $p < 0.01$).

Bakır ve karışımlarının etkisindeki balıkların karaciğer, solungaç ve kas dokularında bakır birikimi 5. günün sonunda, doğrudan bakır etkisine bırakılan balıklara oranla azaldığı belirlenmiştir (Çizelge 1). Bu azalmalardan en fazla olanı solungaç dokusunda bakır+zeolit karışımında yaklaşık %62 oranında olmuş, aynı dokulardaki bakır+kalsiyum derişiminde ise %25 oranında olmuştur (Çizelge 1). Tüm derişimlerde ve dokular arasında istatistik olarak fark bulunurken bakır ortam derişimi ile bakır+kalsiyum ortam derişiminde istatistik olarak fark bulunmamıştır (Çizelge 1 SNK; $P < 0.01$).

Çizelge 1. *O. niloticus* 'da 5. günde doku ve organlarda bakır birikimi ($\mu\text{g Cu/g k.a.}$).

| ORGAN | DERİŞİM | | | |
|-----------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|
| | 0.0 | 1.0 (mg/L Cu) | K1 | K2 |
| | $\bar{X} \pm S\bar{X} *$ | $\bar{X} \pm S\bar{X} *$ | $\bar{X} \pm S\bar{X} *$ | $\bar{X} \pm S\bar{X} *$ |
| Kas | 0.25 \pm 0.03 xa | 8.21 \pm 0.20 xb | 7.01 \pm 0.12 xb | 5.71 \pm 0.51 xc |
| Solungaç | 0.32 \pm 0.17 xa | 34.33 \pm 0.25 yb | 27.70 \pm 1.20 yc | 13.11 \pm 0.3 yd |
| Karaciğer | 6.52 \pm 0.65 za | 114.6 \pm 7.63 zb | 106.1 \pm 2.38 zc | 95.5 \pm 2.58 zd |

Bakır ortam derişimine göre kalsiyum ve zeolit doku ve organlardaki bakır birikimini 10. gün süre sonunda önemli düzeyde düşürmüştür. Bu azalmalardan en fazla olanı karaciğer dokularında bakır+zeolit karışımı etkisindeki balıklarda olup yaklaşık %64 oranındadır. Bakır+kalsiyum derişimindeki azalmalar karaciğer dokusunda %49, kas dokusunda %38 ve solungaç dokusunda %26 oranında olmuştur (Çizelge 2 SNK; P<0.01).

Çizelge 2. *O. niloticus* 'da 10. günde doku ve organlarda bakır birikimi ($\mu\text{g Cu/g k.a.}$).

| ORGAN | DERİŞİM | | | |
|-----------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | 0.0 | 1.0 (mg/L Cu) | K1 | K2 |
| | $\bar{X} \pm S\bar{X} *$ | $\bar{X} \pm S\bar{X} *$ | $\bar{X} \pm S\bar{X} *$ | $\bar{X} \pm S\bar{X} *$ |
| Kas | 0.26 \pm 0.02 xa | 18.11 \pm 0.20 xb | 11.01 \pm 0.10 xc | 9.52 \pm 0.31 xc |
| Solungaç | 0.35 \pm 0.15 xa | 46.43 \pm 0.21 yb | 34.38 \pm 1.11 yc | 23.22 \pm 0.22 yd |
| Karaciğer | 6.65 \pm 0.63 za | 256.6 \pm 5.33 zb | 129.1 \pm 2.21 zc | 99.5 \pm 2.68 zd |

Bakır ve karışımlarının etkisindeki balıkların karaciğer, solungaç ve kas dokularında bakır birikimi, doğrudan bakır etkisine bırakılan balıklara oranla 15. günün sonunda azaldığı belirlenmiştir (Çizelge 3). Bu azalmalardan en fazla olanı bakır+zeolit karışımında kas dokusunda %34, solungaç dokusunda %32 ve karaciğer dokusunda %21 oranında olmuştur (Çizelge 3).

Çizelge 3. *O. niloticus* 'da 15. günde doku ve organlarda bakır birikimi ($\mu\text{g Cu/g k.a.}$).

| ORGAN | DERİŞİM | | | |
|-----------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | 0.0 | 1.0 (mg/L Cu) | K1 | K2 |
| | $\bar{X} \pm S\bar{X} *$ | $\bar{X} \pm S\bar{X} *$ | $\bar{X} \pm S\bar{X} *$ | $\bar{X} \pm S\bar{X} *$ |
| Kas | 0.36 \pm 0.03 xa | 26.17 \pm 0.23 xb | 22.39 \pm 0.13 xc | 17.69 \pm 0.11 xd |
| Solungaç | 0.40 \pm 0.11 xa | 53.07 \pm 0.32 yb | 47.65 \pm 1.35 yc | 36.11 \pm 0.21 yd |
| Karaciğer | 6.88 \pm 0.21 za | 488.6 \pm 5.58 zb | 430.1 \pm 2.45 zc | 385.5 \pm 3.77 zd |

* : a, b, c,d ve e harfleri derişimleri belirlemek; x, y ve z harfleri organlar arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P < 0.01$).

(K1: 1.0 mg/L Cu+1.0 mg/L Ca, K2: 1.0 mg/L Cu+1.0 g/L Zeolit)

$\bar{X} \pm S\bar{X}$: Aritmetik ortalama \pm Standart hata

TARTIŞMA

Ağır metaller, sucul canlıların solunum ve osmoregülasyon sistemini bozmaktadır (Thurberg ve ark., 1973; Bjerregard ve Vislie 1985). Ayrıca balıkların fizyolojik özelliklerini etkileyerek doku ve organlarına zarar vererek; beslenme ve üremesini olumsuz yönde etkilemekte ve balıklarda fonksiyonel ve yapısal değişikliklere neden olmaktadır (Gabryelak ve ark., 2000).

Ağır metaller, organizmalarda sülfidril, karboksil, imidazole, amino ve peptid grupları gibi proteinlerin fonksiyonel gruplarına bağlanmaktadır (Viarengo 1985). Ağır metaller genelde metallothionein gibi metabolik olarak inaktif proteinlerle kompleks yapmakta ve toksik olmayan formlarda birikmektedirler (Winner ve Gaus 1986). Balıklarda ağır metallerin alınması genelde solungaç yoluyla, besin yoluyla ve vücut yüzeyiyle olmaktadır. Vücuda alınan metaller, taşıyıcı proteinlerle kan yoluyla hedef doku ve organlara taşınmakta ve bu hedef dokularda metal bağlayıcı proteinlere bağlanmaktadır (Health 1995).

Metallerin organizmadaki toksisitesinin azaltılmasıyla ilgili birçok araştırma yapılmıştır (Allen 1994; Regoli ve Orlando 1994; Suresh ve ark., 1993; Riget ve ark 1997; Baden ve ark 1999). Bu amaçla yapılan birçok çalışmada EDTA, NTA, sitrat ve zeolit gibi şelatlaştırmacı madde kullanılmıştır (Muramoto 1980; Simon 1981; James ve

ark., 1998; Coğun ve Şahin 2012). Yaptığımız çalışmada bakır ve bakırın kalsiyum ve zeolit ile karışımlarıyla bu metallerin *O. niloticus* doku ve organlarında metal birikimini azalttığı saptanmıştır. Zeolitler, katyon değiştirebilme yeteneklerinden dolayı birçok çalışmada ağır metal giderimi için kullanılmışlardır (Jain 1999; Mishra ve Jain 2009; Coğun ve Şahin 2012). Ayrıca zeolitlerin ağır metal katyonlarına ilgisi çok fazladır (Semmens ve Seyfarth 1978).

Balıklarda karaciğer, ortamda bulunan kirleticilerin biyotransformasyonunda, detoksifikasyonunda ve atılımında (Ali ve ark., 2003), minerallerin depolanmasında ve sindirimde işlevi olan önemli bir organdır. Ayrıca karaciğer metallotionein gibi detoksifikasyon proteinlerinin başlıca sentezlendiği yerdir (Cinier ve ark., 1999). Araştırmamızda *O. niloticus*'da bakır karaciğerde fazla birikmesi bu metallerin karaciğerde depolandığını ve karaciğerin detoksifikasyon olayında etkin bir işlevinin olduğunu göstermektedir. Karaciğerde bakır ve kadmiyum birikimi bunların kalsiyum ve zeolit karışımlarında önemli düzeyde azaldığı saptanmıştır.

Bu azalma Kalsiyumun ortamda bulunması bakır birikiminde azalmaya neden olduğu, kalsiyumun su sertliğini yükselttiğini ve sert sularda metaller daha az aktif olduğu için, balık tarafından birikimi azaltmaktadır (Reichert ve ark., 1979). Zeolit iyon değiştirebilme yeteneği ile iyonik bakırın zeolit etkisinde başka bir katyona dönüşmesi sonucu balığın bakırı daha az almasına neden olabilir (Jain, 1999). Coğun ve Şahin (2012), tarafından yapılan bir çalışmada zeolit karaciğer dokusunda kurşun birikimini azalttığı bildirilmiştir.

Solungaçlar, bir balığın suyla temasının sağlandığı çok önemli bir organdır. Bu nedenle balık solungaçları dış ortamdaki metaller için toksikolojide ilk hedef dokudur ve metalin vücuda girişinde önemli bir yer olduğu belirtilmiştir (Pelgrom ve ark., 1995; Tao ve ark., 1999). Yaptığımız çalışmada bakır ortam derişimi etkide kalınan süreye bağlı olarak balığın solungaçlarında arttığı saptanmıştır. Metallerin kalsiyumla ve zeolit ile olan karışımlarında *O. niloticus* solungaçlarında bakır birikimi en fazla azalma kalsiyumun etkisinde tüm sürelerde ortalama 1.25 katlık azalma olmuştur. Bu azalmaların sebebi bakır Ca ile solungaç yüzeylerine bağlanmada rekabet etmesi (Exley ve ark., 1991), kalsiyumun su ortamını sert hale getirerek metallerin çökmesine sebep olması ve sudaki metal konsantrasyonunu azaltması sonucu dokulardaki metal birikiminin azalmasıdır. Aynı şekilde zeolitlerinde metal bağlayabilme yeteneğinin fazla

olduğu, sudaki metal konsantrasyonunu ve dokularda metal birikimini azalttığı bildirilmiştir (Çoğun ve Şahin 2012).

Balıklarda kaslar, metal biriktirmede metabolik olarak aktif bir doku değildir (Çoğun ve Şahin 2012). Farklı balık türleriyle yapılan araştırmalarda bakır birikiminin de kas dokusunda çok düşük düzeyde olduğu yapılan çalışmalarda saptanmıştır (Çoğun ve ark., 2003; Çoğun ve Kargin 2004). Ancak etkide kalınan sürenin uzamasıyla kas dokusundaki bakır birikiminin arttığı bildirmiştir (Papoutsoglou ve Abel, 1988; Çoğun ve ark., 2003; Çoğun ve Kargin 2004).

Elde edilen sonuçlar göstermiştir ki; bakır birikimi etkide kalınan süreye bağlı olarak artma gösterirken, metalin kalsiyumlu ve zeolitli karışımında metal birikimi *O. niloticus* doku ve organlarında önemli düzeyde azalmıştır. Bu azalmanın sebebi, (I) kalsiyumun su ortamının sertliğini arttırarak ortamdaki metal derişimi ve dokulardaki metal birikimini azalttığı, (II) taşıyıcı protein üzerinde aynı bağlanma bölgeleri için metal ile rekabete girerek metal bağlanmasını engellediği, (III) zeolitin iyon değiştirebilme yeteneği ile ortamdaki metal derişimini ve dokulardaki metal birikimini azalttığı düşünölmektedir.

KAYNAKLAR

- Ali, B. A., Al-Ogaily, S. M., Al-Asgah, N. A., Gropp, J: 2003. Effect of sublethal concentrations of copper on the growth performance of *Oreochromis niloticus*. *J Appl Ichthyol*, 19, 183-188.
- Allen, P. 1994. Mercury accumulation profiles and their modification by interaction with cadmium and lead in the soft tissues of the cichlid *Oreochromis aureus* during chronic exposure. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 53, 684–692.
- Arellano, J. M., Storch, V. And Sarasquete, C. 1999. Histological Changes and Copper Accumulation in Liver and Gills of the Senegales Sole, *Solea senegalensis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 44, 62-72.
- Babel, S., Kurniawan, T. A. 2003. A Research study on Cr (VI) removal from contaminated wastewater using natural zeolite. *Ion Exchange*, 14, 289-292.
- Baden, S. P., Eriksson, S. P., Gerhardt, L. 1999. Accumulation and elimination kinetics of manganese from different tissues of the Norway Lobster *Nephrops norvegicus* (L.). *Aquatic Toxicology* 46, 127-137.
- Berntssen, M. H. G., Waagbo, R., Toften, H. And Lundebye, A.-K., 2003. Effects of dietary cadmium on calcium homeostasis, Ca mobilization and bone deformities in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). *Parr. Aquaculture Nutrition*. 9; 175-183.
- Bjerregaard, P. and Vislie, T. 1985. Effect of Mercury on Ion and Osmoregulation in the Shore Crab *Carcinus maenas* (L.). *Comparative Biochemistry and Physiology*. Vol. 82C, 1; 227-230.
- Bradley, R. W. And Sprague, J. B., 1985. Accumulation of zinc by Rainbow Trout as influenced by pH, water hardness and fish size. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 4, 685-694.
- Buckley, J. T., Roch, M., Mccarter, J. A., Rendell, C. A. And Matherson, A. T. 1982. Chronic exposure of *coho salmon* to sublethal concentrations of copper 1. effects of growth, on accumulation and distribution of copper and on copper tolerance. *Comparative Biochemistry and Physiology*., 72 C (1), 15-19.

- Cinier, C. De C., Petit-Ramel, M., Faure, R., Garin, D. And Bouvet, Y. 1999. Kinetics of cadmium accumulation and elimination in carp *Cyprinus carpio* tissues. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 122, 345-352.
- Çoğun, H. Y., Kargin, F. And Yuzereroğlu T. A. 2003. Accumulation of copper and cadmium in small and large Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 71: 8523-8528.
- Çoğun, H. Y. And Kargin, F., 2004. Effects of pH on the mortality and accumulation of copper in tissues of *Oreochromis niloticus*. *Chemosphere*. 55, 277-282.
- Çoğun H. Y. ve M. Şahin 2012 The effect of zeolite on reduction of lead toxicity in Nil tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakülte Dergisi*. 18 (1): 135-140.
- Dethloff, G. M., Schlenk, D., Khan, S. And Bailey, H. C. 1999. The effects of copper on blood and biochemical parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 36; 415-423.
- Exley, C., Chappell, J. S. and Birchall, J. D. 1991. A mechanism for acute aluminum toxicity in fish. *The Journal of Theoretical Biology* 151, 418-428.
- Firat Ö., Çoğun H. Y., T. A. Yüzereroğlu, G. Gök, Ö. Firat, F. Kargin, Y. Kötemen 2011. A comparative study on the effects of a pesticide (cypermethrin) and two metals (copper, lead) to serum biochemistry of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish Physiology and Biochemistry*. 37: 657-666
- Gabryelak, T., Filipiak, A., Brichon, G., 2000. Effects of zinc on lipids of erythrocytes from carp (*Cyprinus carpio* L.) acclimated to different temperatures, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 127, 335-343.
- Heath, A. G., 1995. Water pollution and fish physiology. CRC Press, 359 pp. Florida USA.
- Hilmy, A. M., Shabana, M. B. And Daabees, A. Y. 1985. Bioaccumulation of Cadmium: Toxicity in *Mugil cephalus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 81C(1), 139-143.
- Hogstrand, C., Reid, S. D. And Wood, C. M., 1995. Ca transport in the gills of fresh water Rainbow Trout and the cost of adaptation to waterborne Zn. *Journal of Experimental Biology*. 198, 337-348.
- Hogstrand, C., Verbost, P. M., Bonga, S. E. W. And Wood, C. M., 1998. Mechanisms of zinc uptake in gills of fresh water Rainbow Trout: Interplay with Ca transport. *The American Journal of Physiology*. 270, 1141-1147.
- Hunn, J. B., 1985. Role of calcium in gill function in freshwater fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 82A, 543-547.
- Jain, S. K. 1999. Protective roles of zeolite on short and long term lead toxicity in Teleost fish *Heteropneustes fossilis*. *Chemosphere*, 39(2): 247-251.
- James, R. 2000. Effect of zeolite on reduction of cadmium level in water and improvement of haematological parameters in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Indian J. Fish*. 47(1), 29-35.
- James, R., Sampath, K., Selvamani, P., 1998. Effect of EDTA on reduction of copper toxicity in *Oreochromis mossambicus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 60, 487-493.
- James, R., Sampath, K. 2000. Effect of zeolite on the reduction of cadmium level in water and fish body and growth improvement in a catfish *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Journal of Aquaculture in the Tropics*. 15(4), 329-338.
- Matyar, F., Eraslan, B., Akkan, T., Kaya, A., Dinçer, S. 2009. İskenderun Körfezi balıklarından izole edilen bakterilerde antibiyotik ve ağır metal dirençliliklerinin araştırılması. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi* 2 (2), 1-5.
- Mishra, M., Jain, S. K. 2009. Effect of natural ion exchanger Chabazite for remediation of lead toxicity: an experimental study in teleost fish *Heteropneustes fossilis*. *Asian Journal of Experimental Sciences*, 23(1): 39-44.
- Munoz, M. J., Carballo, M. And Tarazona, J. V. 1991. The effect of sublethal levels of copper and cyanide on some biochemical parameters of Rainbow Trout Along Subacute Exploitation. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 100C, 3; 577-582.
- Muramoto, S. 1980. Effects of complexans (EDTA, NTA And DTPA) on the exposure to high concentrations of cadmium, copper, zinc and lead. *The Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 25, 941-946.
- Muramoto, S., 1983. Elimination of Copper From Cu-contaminated fish by long-term exposure to EDTA and freshwater. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. 19 (3), 455-461.
- Papoutsoglou, S. E. and Abel, P. D., 1988. Sublethal toxicity and accumulation of cadmium in *Tilapia aurea*. *The Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 41, 404-411.

- Pelgrom, S. M. G. J., Lock, R. A. C., Balm, P. H. M. and Wendelaar Bonga, S. E. 1995. Integrated Physiological Response of Tilapia, *Oreochromis mossambicus*, to sublethal copper exposure. *Aquatic Toxicology*, 32, 303-320.
- Regoli, F., Orlando, E., 1994. Seasonal variation of trace metal concentrations in the digestive gland of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*, Comparison between a polluted and a non-polluted site. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 27, 36-43.
- Reichert, W. L., Federigh, D. A. and Malins, D. C. 1979. Uptake and metabolism of lead and cadmium in Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 63 C, 229-234.
- Riget, F., Dietz, R., Johansen, P., 1997. Zinc, cadmium, mercury and selenium in Greenland fish. *Bioscience Meddelelser om Grønland* 48, 1-29.
- Semmens, M. J., Seyfarth, M. 1978. The selectivity of clinoptilolite for certain heavy metals. In, Sand LB, Mumpton FA (Eds): Natural zeolite occurrence, properties, use, pp. 517-526, Pergamon Press, Elmsford, New York,
- Simon, C. M., 1981. Design and operations of a large scale commercial penaeid shrimp hatchery. *Journal of the World Mariculture Society* 12, 322-334.
- Sipahi, N., Mutlu, C., Akkan, T., 2013. Giresun İlinde Tüketime Sunulan Bazı Balıklardan İzole Edilen Enterobacteriaceae Üyelerinin Antibiyotik ve Ağır Metal Dirençlilik Düzeyleri. *GIDA*, 38(6):343-349, doi: 10.5505/gida.2013.55264.
- Suresh, A., Sivaramakrishna, B. and Radhakrishnaiah, K. 1993. Cadmium induced changes in ion levels and ATPase activities in the muscle of the fry and fingerlings of the freshwater fish, *Cyprinus carpio*. *Chemosphere*, 30, 2; 365-375.
- Tao, S., Liu, C., Dawson, R., Cao, J. and Li, B. 1999. Uptake of Particulate Lead via the Gills of Fish (*Carassius auratus*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 37, 352-357.
- Thurberg, F. P., Dawson, M. A. and Collier, R. S. 1973. Effects of copper and cadmium on osmoregulation and oxygen consumption in two species of estuarine crabs. *Marine Biology*, 23(3); 171-175.
- Türkman, A., Aslan, Ş., Ege, I. 2001. Doğal zeolitlerle atık sulardan kurşun giderimi. *DEU Mühendislik Fakültesi Fen ve Mühendislik Dergisi*. 3(2): 13-19.
- Viarengo, A. 1985. Biochemical effects of trace metals. *Marine Pollution Bulletin*, 16, 4, 153-158.
- Winner, R. W., and Gauss, J. D., 1986. Relationship between chronic toxicity and bioaccumulation of copper, cadmium and zinc as affected by water hardness and humic acid. *Aquatic Toxicology*, 8, 149-161.