



## Kadmiyum Toksisitesine Karşı Humik Asitin Koruyucu Etkisinin Kahverengi Alabalıklar (*Salmo trutta fario*)'ın Elektrolitlerinde Araştırılması

Arzu UÇAR<sup>1</sup> Gonca ALAK<sup>2</sup> Ahmet TOPAL<sup>1</sup> Harun ARSLAN<sup>1</sup> Veysel PARLAK<sup>1</sup>  
Tuğçe ŞENSURAT<sup>1</sup> Muhammed ATAMANALP<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, 25240, Erzurum, Türkiye

<sup>2</sup>Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Erzurum, Türkiye

Sorumlu yazar

e-posta: arzuucar@atauni.edu.tr

Geliş Tarihi : 30 Mart 2012

Kabul Tarihi : 15 Mayıs 2012

### Özet

Su ürünleri yetiştiriciliğinde kadmiyum toksisitesine karşı humik asitin koruyucu etkilerinin araştırıldığı çalışmada, canlı materyal olarak kahverengi alabalık (*Salmo trutta fario*) kullanılmıştır. Uygulama periyodu sonucunda balıklardan örneklenen kanlarda elektrolitlerdeki değişimler incelenmiştir. Ölçülen parametreler ile ilgili sonuçlar tür ve muamele şeklinde değerlendirilmiştir. Sodyum, magnezyum, fosfor ve klor değerlerindeki farklar önemsiz bulunurken kalsiyum değerinde önemli bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

**Anahtar kelimeler:** Kadmiyum, humik asit, kahverengi alabalık, toksisite

## Investigation of Preservative Effect of Humic Acid Versus Cadmium Toxicity on Electrolyte of Brown Trout (*Salmo trutta fario*)

### Abstract

In this study, the protective effects of humic acid against cadmium toxicity in brown trout (*Salmo trutta fario*) were investigated. The alterations at the electrolyte levels were analyzed at the end of the experiment. The parameters were evaluated according to the species and treatment. The differences at Sodium (Na), Magnesium (Mg), Phosphor (P) and Chlor (Cl) were not significant ( $p<0,05$ ) for statically at the Calcium (Ca) was not.

**Keywords:** Cadmium, humic acid, brown trout, toxicity

## GİRİŞ

Kadmiyum (Cd), organizmalara toksik etkili, alımlı, depolama ve salınım gibi olayların meydana geldiği doku ve organlarda metal bağlayıcı bileşikler tarafından esterleştirilmesi sonucu birikim bakımından kümülatif etkili bir ağır metaldir. Cd<sup>2+</sup>, toksik etki göstermesi, çevrede yaygın dağılımı ve düşük düzeylerde bile organizmalarda yan etkilere yol açması nedeniyle ekolojik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan bir metaldir [1].

Metaller, sadece önemli bir ekosistem bileşeni değil aynı zamanda besin kaynağı olarak da kullanılan balıklarda fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmaların bütünlüğünü bozabilmektedir [2]. Yapılan çalışmalarda çevre kirliliği görülen ortamlarda su canlısının vücuduna alınarak birikmekte olduğu ve değişik seviyelerde zararlı toksik etkiler meydana getirdiği bildirilmiştir [3]. Balıklar ortamdaki ağır metali besin, su ve vücut yüzeyinden absorpsiyon yoluyla, en çok da solungaçlar aracılığıyla almaktadır [4, 5].

Humik asitler, organik maddelerin toprak içerisindeki parçalanma ürünleri olan karbonhidrat, amino asit ve fenoller gibi bazı maddelerin meydana

getirdiği humustan köken alan humik, fulvik, ulmik asit, humin ve bazı mikro minerallerden meydana gelmektedir [6, 7, 8]. Humat bileşiklerinin, sindirim kanalında optimum pH oluşumunu sağlayarak patojen mikroorganizmaların çoğalmalarını engellediği, kalsiyum ve çeşitli iz minerallerden yararlanmayı artırdığı, humik ve fulvik asitlerin, kurşun ve civa gibi ağır metallerle, patojenik bakterilerin toksinleri ile şelat oluşturmak suretiyle detoksifikasyonlarında rol oynadığı ve viral partiküllerin hücre yüzeyine yapışmalarını engelleyerek antiviral etki gösterdikleri bildirilmiştir [9].

Sucul canlılarda Cd<sup>2+</sup> etkisi sonrasında; hematolojik etkiler, Ca<sup>2+</sup> homeostazisinde bozulmalar, iyonların düzenlenmesinde görev alan böbrek, solungaç ve bağırsak dokularında histolojik ve morfolojik değişiklikler, hücre dışı sıvılarda iyon derişiminde farklılıklar ve osmoregülatör kapasitede değişimler gözlenebilmektedir [10].

Doğal su ortamlarında genellikle subletal düzeylerde bulunan metallerin kronik etkilerine verilen tepkiler beslenme kaybı, büyümede gerilik, iyon kaybı, solunum

yetersizliği ve ölüm gibi çeşitli fizyolojik ve davranışsal değişiklikler olabilmektedir [11].

Günümüzde, su kirliliği ile ilgili geleneksel çalışmaların yanında, doku ve vücut sıvılarındaki kimyasal maddeler, toksik metabolitler, enzim aktiviteleri veya diğer biyokimyasal değişiklerin analizleri gibi toksik maddelerin biyolojik sistemleri nasıl etkilediğini gösteren belirteçlerin kullanımı daha da önem kazanmaktadır [12].

Kan elektrolitlerinden kalsiyum, sodyum, potasyum ve klor önemli görevlere sahiptir. Bu elektrolitler vücut sıvılarının osmotik dengesini, optimal pH'yı ve kan basıncını dengeler. Hücre zarında polarizasyonun güvencesidirler. Çoğu dokuda yapı taşı olarak görev alırlar. Çünkü doku faaliyetleri optimal pH'ya vazgeçilmez şekilde bağlıdır.

Hayvanlarda kan parametrelerinin değerlendirilmesi, önemli bir araç ve alışıla gelmiş bir yöntemdir. Bu teknik ile hayvanın fizyolojik durumu ile ilgili güvenilir kararlar verebilmek mümkün olur. Balıklarda kan parametreleri üzerine etki eden birçok faktör bulunur. Bunlar çevresel (sıcaklık, fotoperiyot, yoğunluk, tuzluluk, pH, oksijen gibi), fizyolojik (balık türü, üreme, yaş, cinsiyet), toksik ve kirlenici maddeler (ağır metaller, pestisitler, deterjanlar) ve sosyal (sosyal hiyerarşi gibi) faktörler olabilir [13].

Kan plazması yada serumun biyokimyasal analizi, iç organlar (karaciğer ve böbrek gibi), proteinler (albuminler, globulinler), besleyici ve metabolik parametreler (kolesterol, trigliserid, glukoz gibi) ve elektrolitler (Na, Cl, K, Ca, P) hakkında bilgiler sağlamaktadır [14,15]. Bu nedenle plazma/serum parametreleri ağır metallerin toksik etkilerinin belirteçleri olarak kullanılmaktadır [10].

İyonlar (Na, Cl, K ve Ca gibi) balıkların büyümeleri ve iyon dengelerinin sağlanması için gerekli olup çoğu sudan solungaçlar aracılığıyla alınmaktadır. Sudaki ağır metallerle etkileşimde iyon alınımı hasar görmekte ve iyon dengesi bozulmaktadır [16].

Sucul ortamlarda erken safhada Cd<sup>+2</sup>'nin zararlı etkilerinin saptanmasında yeni yöntemlerin geliştirilmesi ve çeşitli belirteçlerin kullanılması oldukça önem kazanmaktadır [1].

Bu çalışmada, kahverengi alabalıklarda (*Salmo trutta fario*) kadmiyum toksisitesine karşı humik asitin koruyucu etkisi bazı biyokimyasal parametreler açısından araştırılmıştır.

## MATERYAL VE METOT

### Araştırma yeri ve balık materyali

Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İçsu Balıkları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen 140±15g ağırlığındaki, öncesinde herhangi bir enfeksiyon yada toksisiteye maruz kalmamış kahverengi alabalıklar (*Salmo trutta fario*) Su Ürünleri Fakültesi toksikoloji deneme ünitesinde denemeye alınmışlardır. Araştırmada tek düzeyli bir sonuca varmak ve yaş faktörünü elemine etmek için aynı yaştaki olgun balıklar

üzerinde çalışılmıştır [17]. Deneme süresince balıklara ticari alabalık peletleri ile serbest yemleme yapılmıştır.

### Su materyali ve araştırma kapları

Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akvaryum Balıkları Yetiştirme ve Araştırma Merkezindeki, mevcut şehir şebekesinden gelen su, aktif karbonlu filtre sistemiyle kloru giderildikten sonra kullanılmıştır [18].

Filtre sisteminden geçirilen su, kg. balığa 0,5 l/dak'dan az olmamak şartıyla tanklara dağıtılmıştır [19,20]. Araştırma boyunca su sıcaklığı 11,5±1,5°C olarak ölçülmüştür.

Araştırmada 1 m çap ve 1 m derinliği olan, su tahliyesi eğik boru sistemiyle yapılan fiberglas tanklar kullanılmıştır [21]. Üçü deneme diğeri kontrol olmak üzere 4 tankta 8 er adet balık stoklanmıştır. Deneme süresince balıkların tanktan dışarı sızmasını önlemek için tankların üzeri ağlarla kapatılmıştır.

### Kimyasal materyali ve deneme süresi

Araştırmada kadmiyum klorit (CdCl<sub>2</sub>)' in (Sigma) 2 ppm'lik dozu ve humik asitin 5 ppm'lik dozları ayrı ayrı ve birlikte olarak [22,23]. *S. t. fario*' larda 7 gün boyunca denenmiştir. Kimyasal uygulamasından önce, balıkların yeni ortama adaptasyonları için 14 gün beklenmiştir.

### Kan örneklerinin alınması, biyokimyasal ve istatistiki analizler

Balıklardan kan örnekleri anestezi uygulamaksızın anal yüzgecin hemen arka kısmı, kana mukoza karışmaması için, iyice kurulanıp, temizlendikten sonra plastik enjektörle kaudal venadan girilerek yaklaşık 3 ml alınmıştır [24]. Alınan örnekler analizler için jelli ve vakumlu kan biyokimya tüplerine konulmuş ve 4000 devirde 10 dakika santrifüjlenmiştir [21]. Elde edilen sonuçlara SPSS13 paket programında t testi uygulanmıştır.

## ARAŞTIRMA BULGULARI

**Çizelge 1.** Kadmiyum toksisitesine karşı humik asit etkisinin araştırıldığı kahverengi alabalıklarda (*Salmo trutta fario*) ait bazı biyokimyasal parametreler

| PARAMETRE       | MUAMELE       | Xor±SH                     |
|-----------------|---------------|----------------------------|
| Sodyum mmol/l   | Kontrol       | 153,80±4,025               |
|                 | Cd            | 153,20±2,775               |
|                 | Cd+Humik Asit | 153,40±6,229               |
| Magnezyum mg/dl | Kontrol       | 3,38±0,482                 |
|                 | Cd            | 4,40±0,644                 |
|                 | Cd+Humik Asit | 3,75±1,034                 |
| Fosfor mg/dl    | Kontrol       | 16,450±0,4509              |
|                 | Cd            | 15,800±3,5355              |
|                 | Cd+Humik Asit | 13,080±6,4959              |
| Klor mmol/l     | Kontrol       | 127,440±4,4444             |
|                 | Cd            | 122,180±5,8598             |
|                 | Cd+Humik Asit | 122,860±6,0900             |
| Kalsiyum mg/dl  | Kontrol       | 10,780±0,6979 <sup>a</sup> |
|                 | Cd            | 6,900±0,9192 <sup>b</sup>  |
|                 | Cd+Humik Asit | 7,500±2,1012 <sup>b</sup>  |

\*p<0,05, ÖD: İstatistiki olarak fark belirlenmedi

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Kadmiyum toksisitesine karşı humik asit etkisinin araştırıldığı kahverengi alabalıklara (*Salmo trutta fario*) ait bazı biyokimyasal parametreler Çizelge 1'de verilmiştir.

Na, Mg, Ca, P ve Cl gibi elektrolitler, iyon homeostasisi ve plazmanın osmotik basıncının korunması için gereklidirler. Plazma elektrolitlerinin ölçülmesi kirleticilerin etkisinde ozmoregülasyonda meydana gelen değişiklikleri değerlendirmede önemlidir [25]. Stres faktörlerinin etkisinde balıklardaki ozmoregülasyon değişiklikleri genellikle kan plazmasındaki  $Na^+$ ,  $K^+$   $Ca^{+2}$  ve Cl<sup>-</sup> iyonlarının ölçülmesiyle saptanmaktadır [11]. Ağır metallerin etkisinde balıklarda iyonik denge bozulmaktadır [16].

Yapılan çalışmalarda Cd'nin en fazla Ca [26] ve Na metabolizmasını [27] etkilediği belirlenmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada [28] Cd etkisinde balıklarda tüm vücut yada plazma iyon dengesinin zarar gördüğü rapor edilmiştir.

Su sıcaklığı 10-15 °C arasında değişen 200 L'lik fiberglas tanklarda tutulan ve 178 günlük periyot boyunca 3,6 µg/L Cd'ye maruz bırakılan gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) türünün geçici olarak Ca ve Mg değerlerinde bir değişiklik görülmesine rağmen farklılıklar önemli bulunmamıştır. Bununla birlikte 6,4 g/L Cd'ye maruz bırakılanlarda ise Na, K, Ca ve Cl seviyeleri önemli derecede düşerken Mg değeri ise önemli derecede artmıştır [27].

15, 29, 64 ve 120 günlük sürelerle sırasıyla 2, 10 ve 42 ppb Cd'ye maruz bırakılan yaklaşık olarak 130 g ağırlığındaki sazan balığı (*Cyprinus carpio*) türünün Ca ve Cl seviyesinde bir azalma eğilimi gözlenirken Na, K ve Mg seviyelerinde ise önemli bir değişiklik gözlenmemiştir [29].

60 gün boyunca 5-10 µg/L Cd'ye maruz bırakılan dil balığı (*Scophthalmus aquosus*) türünün Na, K ve Ca değerlerinde, kontrol grubuna oranla farklılıklar gözlenmemiştir [30].

Tilapia (*Oreochromis niloticus*) ile yaptıkları çalışmada bu türün yüksek derişimdeki Cd<sup>2+</sup> düzeylerine dayanıklı olduğunu ve 96 saatlik en yüksek LD<sub>50</sub> değerlerine (14,8 mg Cd<sup>2+</sup>/L) sahip tatlı su türlerinden biri olduğunu vurgulamışlardır. Bu çalışmada balıklar 5 ve 25 mg Cd<sup>2+</sup>/L etkisinde 24, 48 ve 96 saat süreyle bırakılmış ve deney sonunda plazma Na<sup>+</sup> düzeyi değişiklik göstermezken, Ca<sup>2+</sup> düzeyi uygulanan doza bağlı olmaksızın 96 saat sonunda azalmış ve solungaç Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPaz aktivitesi ise değişiklik göstermemiştir [31].

Kadmiyum'un letal olmayan derişimlerde sucül ortamlara katılımı, balıkların doku ve organlarında birikimle sonuçlandırıldığı rapor edilmiştir [32]. Akuatik canlılarda kadmiyum birikiminin metal derişimine, türe ve ortam şartlarına bağlı olarak değiştiği saptanmıştır [33,34].

Sunulan çalışmada kadmiyum ve kadmiyum+humik asit uygulanan grupta serum Na, P, Cl ve Ca

düzeylerinin kontrol grubuna göre azaldığı; Mg düzeylerinin ise arttığı saptanmıştır. İyon düzeylerinde gözlenen bu değişiklikler büyük bir olasılıkla metallerin etkisinde iyon alımını ve atılımında görev yapan dokuların hasar (solungaç, böbrek gibi) görmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yaptıkları bir çalışmada Cd etkisinde balıklardaki iyon regülasyonun bozulduğunu ve bu durumun su ile balık arasında iyonların değişimini yapan solungaç, böbrek ve bağırsaklar gibi dokular üzerine Cd'nin neden olduğu patolojik durumlardan kaynaklandığını belirtmişlerdir. [11], metal etkisinde balıklarda iyon dengesinin bozulmasını N-K-ATPaz gibi ozmoregülasyonda görevli enzimlerin inhibisyonuyla ilişkili olduğunu ileri sürmüştür.

Genelde plazma Na ve Cl düzeyleri kirleticilerden benzer düzeylerde etkilenmektedir [35]. Plazma Na düzeyinin metallerin etkisinde tilapia (*Oreochromis mossambicus*) [38] ve gökkuşuğu alabalığı (*Salmo gairdneri*)'nda [26] azaldığı saptanmıştır. Tilapia balıklarının (*Oreochromis mossambicus*) Cd etkisinde plazma Na düzeyinin azaldığını ve bu durumun solungaçlarda geçirgenliğin artmasıyla gerçekleşen iyon kayıpları sonucunda oluştuğunu belirtmişlerdir [36]. Gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nda gümüş etkisinde plazma Cl düzeyinin azaldığını saptamışlardır [37]. Tilapia balıklarında (*O. mossambicus*) plazma Cl düzeyi bakır+kadmiyum karışımını etkisinde azalmış [38] ve bu azalma HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>'ün atılımındaki azalmayla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Bakırın etkisinde tilapiada (*O. mossambicus*) serum Cl düzeyindeki azalmaları böbrek yoluyla Cl iyonlarının atılımından kaynaklandığı belirtilmiştir [39].

Gökkuşuğu alabalığında Cu etkisinde plazma Na, Cl ve Ca düzeylerinin azaldığını rapor etmişlerdir [40]. Ağır metaller aynı zamanda Ca metabolizmasını da bozmaktadırlar. Tilapia'da Cu+Cd etkisinde plazma Ca düzeyinin azaldığı saptanmıştır [38]. Plazma Ca düzeylerindeki azalmaları böbrekten Ca'nın tekrardan alımının bozulmasına bağlamışlardır [41]. Cd solungaçlardan Ca<sup>2+</sup> alımını engelleyerek solungaç dokusunda yoğunlaştığı belirtilmiştir [42, 43]. *O. mossambicus*'da Cd etkisinde serum Ca düzeyinin oldukça düştüğü saptanmıştır [38]. Plazma K düzeyinde gözlenen artışlar ise azalan sodyumla oluşan hücre içi sıvıdaki ozmotik değişiklikleri dengelemek için olduğu belirtilmiştir [44].

Ekstraselüler sıvının temel inorganik anyonu olan Cl<sup>-</sup>'nin, Asit-baz dengesinin devamlılığında önemli olduğunu Cl ve Na'nın vücut sıvısının osmolaritesini dengelediğini bildirmişlerdir. Önemli bir katyon olan Na'nın, vücut suyunun dağılımı, kanın asit-baz dengesi ve sinir ve kas fonksiyonları ve kan pH'sının korunmasında önemli görevi olduğunu, alabalıklar için Na serum değerlerinin ise 138,7-158,3 mmol/l aralığında değiştiğini tespit etmiştir [45].

Tatlı su balıkları hiperozmotik bir ortamda bulunduğundan uzun dönemli metal etkileşiminden sonra solungaç epitelyumunun hasar görerek suyun girişi ve tuzun çıkışına karşı solungaç epitelyumunun

geçirgenliğinin arttığı [46,47] ve bunun sonucunda da iyon kayıplarının yaşandığı belirtilmektedir [48].

Balıklar, insanlar ve diğer organizmaların önemli bir besin kaynağı olması nedeniyle metallerin balıklar üzerine neden olacağı herhangi bir olumsuz etki insanları ve diğer organizmaları da etkileyecektir. Bu nedenle toksik metallerin balıklarda neden olacağı fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikleri belirlemek ekosistemin geleceği açısından önemlidir. Çevresel kirleticilerin etkisinde kan hücreleri, kan biyokimyası ve hormonları gibi kan parametrelerinde değişiklikler organizmanın fizyolojik durumunun belirlenmesine olanak sağlamaktadır. Organizmada meydana gelen spesifik hasarları belirlemek için plazma enzim düzeyleri ve kan biyokimyasal parametrelerinin çalışılmasının bir gereklilik olduğunu belirlenmiştir.

## KAYNAKLAR

- [1] Almeida JA, Novelli ELB, DalPai-Silva M. ve Alves Junior R. 2001. Environmental cadmium exposure and metabolic responses of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Environ. Pollut., 114:169-175.
- [2] Basha PS. ve Rani AU. 2003. Cadmium-induced Antioxidant Defense Mechanism in Freshwater Teleost *Oreochromis mossambicus* (Tilapia). Ecotoxicology and Environmental Safety, 56: 218–221.
- [3] Katalay S. ve Parlak H. 2004. The Effects of Cadmium on erythrocyte structure of lack Gobby (*Gobius niger* L., 1758). Ege University Journal of Fisheries & Aquatic Sciences, 21(1-2) : 99-102.
- [4] Sımkıss K, ve Taylor. MG, 1989. Metal Fluxes Across the Membranes of Aquatic Organisms. Review. Aquatic Sciences, 1(1): 173-188
- [5] Viarengo A, Mancinelli G, Pertica M, Fabbri R, ve Orunesu M, 1993. Effects of heavy metals on the Ca<sup>2+</sup>-ATPase activity present in gill cell plasma-membrane of mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lam.). Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 106 (3): 655-660.
- [6] Stevenson FJ, 1994. Humus Chemistry-Genesis , Composition. Reactions. John Wiley and Sons. New York, NY.
- [7] Rung, J. G., Hsin, L. Y., Jau, L. S. ve Fung, J. L, 2001. Induction of Oxidative Stress by Humic Acid through Increasing Intracellular Iron: A Possible Mechanism Leading to Atherothrombotic Vascular Disorder in Blackfoot Disease. Biochemical and Biophysical Research Communications 283: 743–749.
- [8] Ying JC, Chao SL, Tien SH, Mei LY, ve Fung JL, 2001. Humic acid induced growth retardation in a sertol cell line, TM4. Life Science, 69: 1269-1284.
- [9] Çetin N, Çetin E. ve Güçlü BK, 2006. Yumurta tavuklarında rasyona ilave edilen humat ve organik asitlerin bazı hematolojik parametreler üzerine etkisi. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 53:165-168.
- [10] Bergdahl IA, Schütz A, Gerhardson L, Jensen A. ve Skerfving S. 1997. Lead Concentrations in Human Plasma, Urine and Whole Blood. Scand. J. Work. Environ. Health, 23: 359–363.
- [11] Heath AG, 1987. Water Pollution and Fish Physiology. CRC press, Florida, USA, 245s.
- [12] De La Torre FR, Salıbian A. ve Ferrari L, 2007. Assessment of the pollution impact on biomarkers of effect of a Freshwater Fish. Chemosphere, 68:1582-1590.
- [13] Çelik EŞ., Aslan A. ve Alparslan M, 2008. Balıklarda kan glukozunu etkileyen başlıca faktörler. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 24(1-2):364– 379.
- [14] Jain NC, 1986. Schalm's Veterinary Hematology, 4th Edition. Lea and Febiger, Philadelphia, PA, pp. 20-87.
- [15] Duncan RJ, Prasse KW. ve Mahaffey EA, 1994. Veterinary Laboratory Medicine Clinical Pathology, 3rd Edition. Iowa State Press, Ames, IA.
- [16] McDonald, D. G. ve Wood, C. M, 1993. Branchial Mechanism of Acclimation to Metals in Freshwater Fish. In Fish Ecophysiology (Edited by Rankin, J. C. and Jensen, F. B.). Fish and Fisheries Series 9, pp. 297–321, Chapman and Hall, London.
- [17] Kocabatmaz M. ve Ekingen G, 1984. Değişik tür balıklarda kan örneği alınması ve hematolojik metotların standardizasyonu. Doğa Bilim Dergisi, D1(8,2):149-159.
- [18] Schmidtke, L.M. ve Carson. J, 1999. Induction, characterisation and pathogenicity in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) of *Lactococcus garvieae* L-forms Veterinary Microbiology, 69: 287-300.
- [19] Stickney RR, 1991. Culture of Salmonid fishes, School of Fisheries, University of Washington, Seattle, Washington, p 52.
- [20] Çelikkale MS, 1994. İç Su Balıkları ve Yetiştiriciliği, KTÜ Sürmene Deniz Bilimleri Fak. Genel Yayın No: 124, Fak. Yayın No: 2, Cilt 1, 2. Baskı, Trabzon, s.37.
- [21] Bricknell IR, Bowden TJ, Bruno DW, MacLachlan P, Johnstone R. ve Ellis AE, 1999. Susceptibility of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L). to infection with typical and atypical *Aeromonas salmonicida*. Aquaculture, 175:1–13.
- [22] Talas ZS, Orun I, Ozdemir İ, Erdogan K, Alkan A, ve Yılmaz I, 2008. Antioxidative role of selenium against the toxic effect of heavy metals (Cd<sup>2+</sup>, Cr<sup>3+</sup>) on liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792). Fish Physiol Biochem, 34:217–222.
- [23] Wood CM, Al-Reasi HA, ve Smith DS, 2011. The two faces of DOC. Aquatic Toxicology, 105(3–4):3–8.
- [24] Peutz, I.L.J.A, Oorschot, R.W.A., Johnson, G.R., Horney, B.S. ve Boon, H.J, 1996. The lucogram as an indicator of marine-cultured rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), health in Netherlands, Aquaculture Research, 27: 437-445.
- [25] Tomasso JR, Goudie CA, Simco BA, ve Davis KB, 1980. Effects of environmental pH and calcium on ammonia toxicity in Channel Catfish. Trans. Am. Fish Soc., 109: 229-234.

- [26] Reid, S. D. ve McDonald, D. G., 1988. Effects of Cadmium, Copper and Low pH on in the Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 45: 244–253
- [27] Giles MA, 1984. Electrolyte and water balance in plasma and urine of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) during chronic exposure to cadmium. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 41: 1678–1685.
- [28] Mcgeer, J. C., Szebedinszky, C., McDonald, D. G. ve Wood, C. M., 2000. Effects of Chronic Sublethal Exposure to Waterborne Cu, Cd or Zn in Rainbow Trout, I. Iono-regulatory Disturbance and Metabolic Costs. Aquat. Toxicol., 50: 231–243.
- [29] Yamawaki K, Hashimoto W, Fujii K, Koyama J, Ikeda Y, ve Ozaki H, 1986. Hemochemical changes in carp exposed to low cadmium concentrations. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 52 (3): 459-465.
- [30] Dawson MA, 1990. Blood chemistry of the Windowpane Flounder *Scophthalmus aquasus* in Long Island Sound: Geographical, Seasonal, and Experimental Variations. Fishery Bulletin, 88 (3) : 429-437.
- [31] Garcia-Santos S, Fontainhas-Fernandes A. ve Wilson JM. 2006. Cadmium tolerance in the Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) following acute exposure: Assessment of Some Ionoregulatory Parameters. Environment Toxicology, 21: 33-46.
- [32] Kulikova, I., Selsuma Z. ve Lengzdina. M, 1985. Heavy metals in marine organisms. Symposia Biologica Hungarica, 29:141-145.
- [33] Kargin F. ve Çoğun HY, 1999. Metal interactions during accumulation and elimination of Zinc and Cadmium in tissues of the freshwater fish *Tilapia nilotica* Bull. Environ. Contam. Toxicol. 63, 511-519.
- [34] Cıçık B, Ay Ö. ve Karayakar F, 2004. Effects of Lead and Cadmium interactions on the metal accumulation in tissue and organs of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Bull. Environ. Contam. Toxicol., 72:141- 148.
- [35] McDonald, D. G., Reader, J. P. ve Dalziel, T. R. K, 1989. The Combined Effects of pH and Trace Metals on Fish Ion Regulation. In Acid Toxicity and Aquatic Animala (eds: Morris, R., Taylor, E. W. And Brown, J. A.). Soc. Exp. Biol. Semin. Scr., 31: 221-242.
- [36] Munoz, M. J., Carbailo, M. ve Tarazona, J. V, 1991. The Effects of Sublethal Levels of Copper and Cyanide some Biochemical Parameters of Rainbow Trout along Subacute Exposure. Comp. Biochem. Physiol., 100C: 577–582.
- [37] Rose-Janes, N. G. ve Playle, R. C, 2000. Protection by Two Complexing Agents, Thiosulphate and Dissolved Organic Matter, against the Physiological Effects of Silver Nitrate to Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Ion-Poor Water. Aquat. Toxicol., 51: 1-18.
- [38] Pelgrom, S. M. G. J., Lock, R. A. C., Balm, P. H. M. ve Wendelaar Bonga, S. E, 1995 . Effects of Combined Waterborne Cd and Cu Exposures on Ionic Composition and Plasma Cortisol in Tilapia, *Oreochromis mossambicus*. Comp. Biochem. And Physiol. P. C: Toxicol. And Endocrin., 111 (2): 227-235.
- [39] Nussey, G., Van Vuren, J. H. J. ve Du Preez, H. H, 1995. Effect of Copper on the Haematology and Osmoregulation of the Mozambique Tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae). Comp. Biochem. Physiol.C: Comp. Pharma. and Toxicol., 111, 3: 369–380.
- [40] Pilgaard, L., Malte, H. ve Jensen, F. B, 1994. Physiological Effects and Tissue Accumulation of Copper in Freshwater Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) under Normoxic and Hypoxic Conditions. Aquat. Toxicol., 29: 197- 212.
- [41] Larsson A, Bengtsson BE, Haux C., 1981. Disturbed ion balance in Flounder, *Platichthys flesus* L., Exposed to Sublethal Levels of Cadmium. Aquat. Toxicol., 1: 19-35.
- [42] Verbost PM, Van Rooji J, Flik G, Lock RAC, ve Wendelaar Bonga SE, 1989. The movement of cadmium through freshwater trout branchial epithelium and its interference with calcium transport. J. Exp. Biol., 145: 185-197.
- [43] Wood CM, 2001. Toxic Responses of the Gill. In: Schlenk, D., Benson, W. H. (Eds), Target Organ Toxicity in Marine and Freshwater Teleost. Taylor and Francis, London, pp. 1-87.
- [44] Witter HE, 1986. Acute acid exposure of Rainbow Trout, *Salmo gairdneri* Richardson: effects of aluminium and calcium on iron balance and haematology. Aquat. Toxicol., 8:197-210.
- [45] Çelik EŞ, 2006. Bazı balık türleri için kan elektrolitlerinin standardizasyonu. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 36,C2(1-2): 245-255.
- [46] Lauren, D. J. ve McDonald, D. G, 1985. Effects of Copper on Branchial Ionoregulation in the Rainbow Trout, *Salmo gairdneri* Richardson. J. Comp. Physiol., 155B: 635–644.
- [47] Richards, J. G. ve Playle, R. C, 1999. Protective Effects of Calcium against the Physiological Effects or Exposure to a Combination of Cadmium and Copper in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Can. J. Zool., 77: 1035- 1047.
- [48] Monteiro, S. M., Mancera, J. M., Fernandes, A. F. ve Sousa, M, 2005. Copper Induced Alterations of Biochemical Parameters in the Gill and Plasma of *Oreochromis niloticus*. Comp. Biochem. Physiol., 141C: 375-383.