



**Gülbin Firidin**

Gazi University, gulbinfiridin@gazi.edu.tr, Ankara-Turkey

<http://dx.doi.org/10.12739/NWSA.2016.11.4.5A0079>

**TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) BALIĞI DOKULARINDA PROTEİN VE Pb DÜZEYLERİ ÜZERİNE Pb VE Pb+Zn KARIŞIMININ ETKİSİ**

**ÖZ**

Balıklar ekosistem içerisinde insanlar tarafından tüketilen önemli bir protein kaynağıdır. Bu çalışmada Afrika kökenli tatlı su çipurası *Oreochromis niloticus*'un solungaç ve kas dokularında kurşunun (Pb) toksik etkisi incelenmiştir. Balıklar 7, 14 ve 28 günlük sürelerle Pb (0.1 ve 0.5 mg/L Pb) ve Pb+Zn (çinko) (0.1+0.5 mg/L Pb+Zn ve 0.5+2.5 mg/L Pb+Zn) konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. Dokuların protein miktarı U.V spektrofotometrik yöntem ile incelenmiştir. Dokulardaki Pb birikimi ise Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresiyle belirlenmiştir. Pb ve Pb+Zn etkisinde dokulardaki Pb birikimi kontrol grubuna göre önemli bir şekilde artarken protein düzeyi azalmıştır. Pb birikimi solungaçta daha fazla bulunmuştur. Çalışılan tüm sürelerde Zn'nin *O. niloticus* dokularında Pb birikimini önemli ölçüde azalttığı saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Oreochromis niloticus*, Kurşun, Çinko, Protein Düzeyi, Toksikite

**THE EFFECT OF Pb AND Pb + Zn MIXTURE ON PROTEIN AND Pb LEVELS OF TILAPIA FISH (*Oreochromis niloticus*)**

**ABSTRACT**

Fish is an important source of protein consumed by people in the ecosystem. In this study, African freshwater fish *Oreochromis niloticus* were investigated to lead (Pb) toxicity in gill and muscle tissues. Fish were exposed to Pb (0.1 and 0.5 mg/L Pb) and Pb+Zn (0.1+0.5 mg/L Pb+Zn and 0.5+2.5 Pb+Zn mg/L) concentrations at 7, 14 and 28 days. Tissue protein levels were determined by U.V. spectrophotometric method. The Pb accumulations in the tissues were determined by Atomic Absorption Spectrophotometer. While Pb accumulation significantly decreased to compare with the control group, the protein level increased in the tissues under the effects of Pb and Pb+Zn. Pb accumulation was higher in the gills. Zn was found to significantly reduce Pb accumulation in *O. niloticus* tissues, studied at all times.

**Keywords:** *Oreochromis niloticus*, Lead, Zinc, Protein Level, Toxicity



## 1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

Endüstriyel ve tarımsal prosesler, nüfus artışı, fosil yakıtların yaygın bir şekilde kullanılması ile artan asit yağmurları, sel ve toprak erozyonu gibi doğal afetler metallerin akuatik ortamda artmasına neden olmaktadır [23, 15]. Besin zincirine ulaşan metaller kimyasal veya biyolojik olarak vücuttan atılmamakta ve birikime neden olmaktadır. Pb, akuatik organizmalar için çok toksik olup, dokulardaki birikimi sonucu besin yoluyla insanlara transfer edilmektedir [11]. Zn biyolojik olarak önemli bir iz elementtir. Birçok enzimatik reaksiyonda kofaktör olarak görev yaparak hücre metabolizmasında önemli bir rol oynamaktadır. Ancak sürekli ve aşırı Zn alınımı toksik etkilere neden olabilmektedir. Akuatik canlılar tarafından ağır metallerin ortamdaki alınımı besin, solungaçlar ve tüm vücut yüzeyinden absorpsiyon yolları ile gerçekleşmektedir. Balıklarda metal birikimi organ yapısına bağlı olarak değişmektedir [15].

Hayati solunum ve osmoregülasyon organları olan solungaçlar yüksek oranlarda metalleri biriktirmektedir. Metallerin tetiklediği hücre hasar, solunum yüzey alanını küçülterek solunum fonksiyonlarını bozmaktadır [12 ve 23]. Kas dokusu metabolik aktivite bakımından diğer dokulara göre daha az aktif olmasına rağmen sucul organizmalarda tüketilebilir kısım olmaları nedeniyle bu dokudaki metal birikiminin ve protein düzeyinin incelenmesi önemlidir. Proteinler hücre homeostasisini sürdürmek için temel fizyolojik olayları kapsamakta ve sucul organizmalarda enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır [15]. Balıklarda proteinler; yapısal bileşenler, biyokatalizörler ve hormonlar olarak büyüme ve farklılaşmada önemlidirler. Bundan dolayı balık protein miktarındaki değişiklikler balıkların biyolojik durumunun izlenmesinde biyoindikatör olarak kullanılabilir [3].

## 2. ÇALIŞMANIN ÖNEMİ (RESEARCH SIGNIFICANCE)

Ekonomik değeri olan balıklar besin zincirinin üst seviyesinde bulunan insanlar tarafından tüketildiği için bunların metal birikimlerinin ve protein değerlerinin incelenmesi önemlidir. Ayrıca balıklar çevresel faktörlere karşı hemen tepki gösterdikleri için kirlilik belirlenmesinde indikatör olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu çalışmada; laboratuvar koşullarında toksik etkili olan Pb'nin tek başına ve Zn ile birlikteki etkisi sonunda *O. niloticus*'un solungaç kas dokularında farklı süreler (7, 14 ve 28 gün) sonunda Pb birikiminin ve protein düzeylerinin ölçülmesi amaçlanmıştır.

## 3. DENEYSSEL ÇALIŞMA (EXPERIMENTAL METHOD)

Araştırmada kullanılan *Oreochromis niloticus*'lar, Ç.Ü. Su Ürünleri Fakültesi balık yetiştirme havuzlarından alınıp laboratuvara getirilmiştir. Balıklar içerisinde dinlendirilmiş çeşme suyu bulunan akvaryumlar içerisinde iki ay süre ile adaptasyona bırakılmıştır. Deneysel başında balıklar 12.85±0.78 cm boy ve 27.15±0.85 g ağırlığa ulaşmıştır. Deneyler 25±1°C sıcaklıkta yürütülmüş, akvaryumlar merkezi havalandırma sistemi ile havalandırılmış ve günde sekiz saat aydınlatma periyodu uygulanmıştır. Balıklar, laboratuvara koşullarına adaptasyonları süresince hazır balık yemiyle (Pınar Balık Yemi, Türkiye) beslenmiştir. Deneysel ortam suyunun kimyasal özellikleri; toplam sertlik, 368.52±5.75 mg/L CaCO<sub>3</sub>; pH, 8.11±0.69, çözülmüş oksijen, 7.31±0.32; akvaryum ısı, 21.08±0.89°C olarak ölçülmüştür. Deneyler, Pb ve Pb+Zn karışımının ortam konsantrasyonları dikkate alınarak iki seri olarak yürütülmüştür. Balıklar birinci seride Pb'nin 0.1 ve 0.5 mg/L konsantrasyonlarına, ikinci seride Pb+Zn karışımının 0.1+0.5 mg/L ve 0.5+2.5 mg/L ortam konsantrasyonlarının etkisine 7, 14 ve 28 gün sürelerle bırakılmıştır. Her birinin içerisinde 18 balık



bulunan 3 akvaryum kullanılmıştır. Her seride üçüncü akvaryuma dinlendirilmiş çeşme suyu konularak kontrol olarak kullanılmıştır. Deneyler üç tekrarlı olarak yürütülmüştür ve her tekrarda iki balık kullanılmıştır. Deneme süresi sonunda balıkların solungaç ve kas dokuları dissekte edilerek %0.59'luk soğuk NaCl çözeltisi ile yıkanmıştır. Dokular analizler için -80°C'ye konmuştur. Metal analizi yapılacak dokular etüvde 150°C'de 48 saat süreyle kurutulduktan sonra ağırlıkları alınmıştır. Daha sonra tüp içine alınarak üzerlerine 2 ml nitrik asit ve 1 ml perklorik asit eklenmiş [19] ve çeker ocakta 120°C'de 3 saat süreyle yakılmıştır. Yakım işlemi tamamlanan dokuların üzerleri damıtık su ile 5 ml'ye tamamlanmıştır. Pb düzeyleri Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresiyle (Perkin Elmer 3100) belirlenmiştir. Protein düzeyinin belirlenmesi için dokular üzerine ağırlıklarının 1/10'u oranında homojenizasyon tamponu eklenerek (250 mM sukroz, 20 mM Trizma-Baz, 1mM EDTA- pH 7.8) 9500 rpm'de 1.5 dk süreyle buz üstünde homojenize edilmiştir. Homojenatlar 10.000 g'de +4°C'de 20 dk santrifüj edilmiş ve elde edilen süpernatantlarda protein düzeyi Lowry metodu [16]ile spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Deney sonuçlarının istatistik analizleri "Regresyon Analizi" ve "Student-Newman Keul's Test (SNK)" testleri uygulanarak yapılmıştır.

#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA (FINDINGS AND DISCUSSIONS)

28 günlük deney sonunda yüksek Pb ve Pb+Zn konsantrasyonlarının etkisinde kalan balıklarda mortalite gözlenmemiştir. Akuatik organizmalar ağır metal bulunan ortamlarda yaşayabilmek için çeşitli adaptasyon ve detoksifikasyon mekanizmaları geliştirmişlerdir [13]. Metallerin birikimi, düzenlenmesi ve immobilizasyonunu sağlamak için metal bağlama proteinleri, lizozom, granül, membran bağlanma bölgeleri gibi hücre içi sistemler gelişmiştir. Toksik metaller bu hücre içi fraksiyonlara bağlanarak detoksifiye edilmektedir [17, 24 ve 25]. Belirli bir ortam konsantrasyonunda uygulama periyodunun uzamasıyla dokularda Pb birikiminin arttığı kaydedilmiştir. 0.1 mg/L Pb ortam konsantrasyonundaki balıklarda Pb birikimi 28. günde 7. güne oranla yaklaşık olarak solungaç dokusunda 1.5, kas dokusunda ise 3 kat kadar daha yüksek olduğu bulunmuştur (P<0.05). Düşük Pb ve Pb+Zn karışımlarında 7 ve 14 günlük süreler arasında solungaç dokusunda Pb düzeyleri arasında önemli fark gözlenmezken (P>0.05) 28 günlük süre sonunda önemli artış gözlenmiştir (Tablo 1-2) (P<0.05). Çeşitli balık türleriyle yapılan çalışmalarda dokulardaki Pb birikiminin konsantrasyonuna ve etkide kalınan süreye bağlı olarak arttığı belirtilmiştir [2, 4 ve 6]. Al-Asgah ve ark., [1] *O. niloticus* ile yaptıkları bir çalışmada metal birikiminin metalin konsantrasyonuna, uygulama süresine ve organ çeşidine göre değiştiğini bildirmişlerdir.

Tablo 1. Pb ve Pb+Zn karışımının etkisine 7, 14 ve 28 gün süreyle bırakılan *O. niloticus*'un solungaç dokusundaki Pb düzeyi ( $\mu\text{g Pb/g k.a.}$ )

(Table 1. The levels of Pb in the gill tissue of *O. niloticus* exposed to Pb and Pb+Zn mixtures for 7, 14, and 28 days ( $\mu\text{g Pb/g k.a.}$ )

Metal Konsantrasyonları (mg/L)	Süre (Gün)		
	7	14	28
Kontrol	0.0	0.0	0.0
0.1 Pb	23.42+1.57 ax	28.41+3.75axy	35.83+2.10 ay
0.1 Pb+0.5 Zn	17.14+0.75 bx	21.43+1.75 bx	28.41+2.28 by
Kontrol	0.0	0.0	0.0
0.5 Pb	29.21+1.85 ax	38.25+2.27 ay	46.21+1.55 az
0.5 Pb+2.5 Zn	21.41+1.85 bx	29.42+1.08 bx	38.18+2.39 by



Bu çalışmada *O. niloticus*'un solungaç ve kas dokularında Pb birikimi önceki çalışmalarla uyumlu olarak ortam konsantrasyonları ve süreye bağlı olarak artmıştır. Bu durum metalotiyonein gibi metal bağlayıcı proteinlerin ve glutasyon gibi tripeptidlerin metalleri bağlayarak dokularda tutmalarından kaynaklanabilmektedir.

Tablo 2. Pb ve Pb+Zn karışımının etkisine 7, 14 ve 28 gün süreyle bırakılan *O. niloticus*'un kas dokusundaki Pb düzeyi ( $\mu\text{g Cu/g k.a.}$ )

(Table 2. The levels of Pb in the muscle tissue of *O. niloticus* exposed to Pb and Pb+Zn mixtures for 7, 14, and 28 days ( $\mu\text{g Pb/g k.a.}$ )

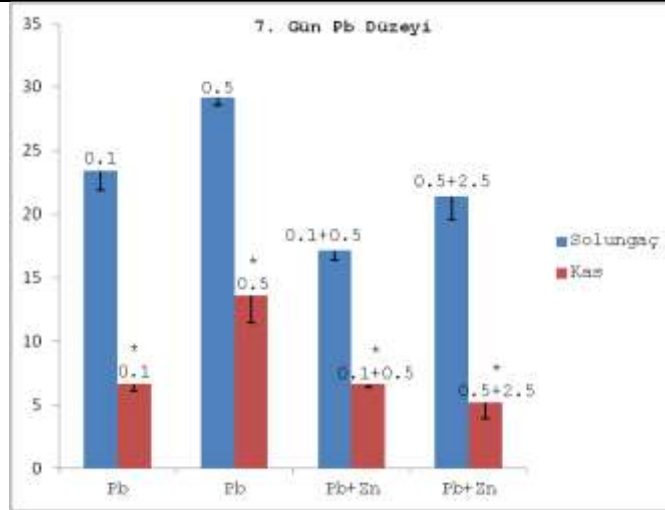
Metal Konsantrasyonları (mg/L)	Süre (Gün)		
	7	14	28
Kontrol	0.0	0.0	0.0
0.1 Pb	6.67+0.61 ax	11.33+0.43 ay	20.97+0.69 az
0.1 Pb+0.5 Zn	4.28+0.30 bx	7.28+1.41 bx	13.70+0.76 by
Kontrol	0.0	0.0	0.0
0.5 Pb	13.58+2.12 ax	22.35+2.51 ay	34.21+3.14 az
0.5 Pb+2.5 Zn	5.17+1.21 bx	8.66+0.73 bx	18.94+2.01 by

a ve b harfleri konsantrasyonlar; x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında  $P<0.05$  düzeyinde istatistik ayırım vardır.

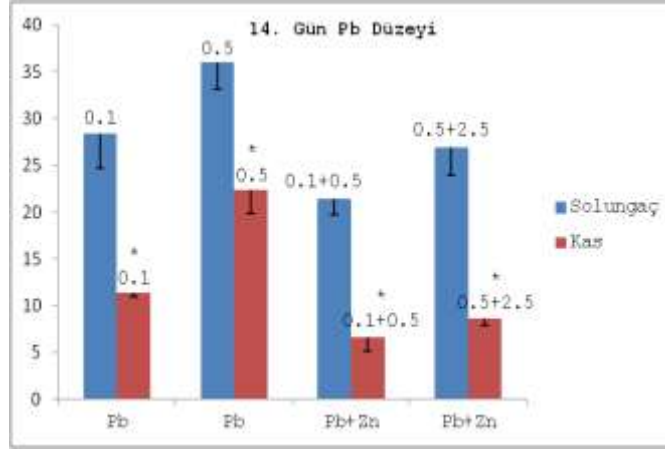
(Aritmetik Ortalama  $\pm$  Standart Hata) (Tablo 1-2)

Çalışılan her bir sürede Pb konsantrasyonunun artması dokulardaki Pb birikimini de arttırmıştır. Belirli bir ortam konsantrasyonu dikkate alındığında dokulardaki Pb birikiminin farklı olduğu gözlenmiştir. 0.5 mg/L Pb ortam konsantrasyonunda, solungaç dokusundaki Pb düzeyi kas dokusuna oranla yaklaşık olarak 7, 14 ve 28. günlerde sırasıyla 2 - 2 ve 1 katlık artış göstermiştir (Şekil 1 A, B, C) ( $P<0.05$ ). Bu durum, geniş bir yüzey alanı olan solungaçların dış ortam ile direkt temas halinde olmasından ve stresle birlikte artan mukusun metalle kompleks oluşturmasından kaynaklanabilmektedir. Aquatik organizmalarda ağır metal birikimi ortamda başka metalin bulunmasına bağlı olarak değişmektedir [8 ve 10]. Zn uygulamasının *O. niloticus*'un solungaç ve kas dokularında toksik etkiye neden olan Pb birikimini önemli bir şekilde azalttığı gözlenmiştir. 7, 14 ve 28 günlük süreler sonunda 0.5 +2.5 mg/L Pb+Zn karışımındaki balıklarda Pb birikimi 0.5 mg/L Pb etkisindeki balıklara oranla yaklaşık olarak sırasıyla solungaçta %26, %23, %17; kasta %62, %61, %45 oranında azalmıştır ( $P<0.05$ ) (Tablo 1-2). Bir çok akuatik canlıda Zn'nin ağır metal toksisitesini azalttığı araştırmacılar tarafından belirtilmiştir [14, 7, 21 ve 5].

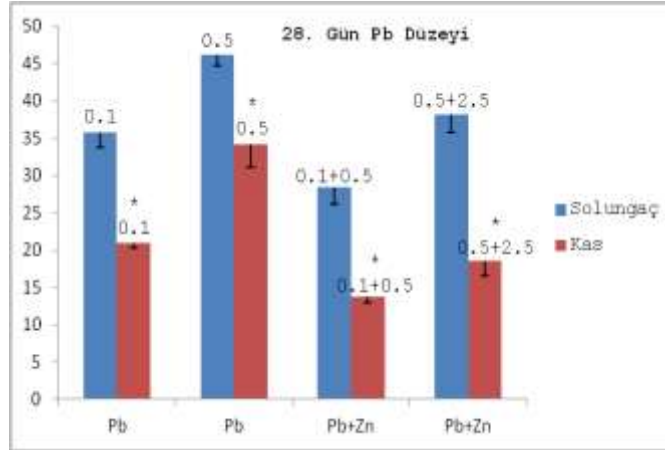
Bu çalışmada Pb ve Pb+Zn karışımlarının etkisinde kalan balıkların solungaç ve kas dokularında önemli oranda Pb birikimi kaydedilmiştir. Bu birikim tek başına Pb etkisinde daha fazla olmuştur. Analiz sonuçlarında bir metalin dokulardaki birikiminin başka bir metalin ortamda bulunması ile azaldığı görülmektedir. Bu durum metallerin dokulardaki bağlanma bölgeleri için rekabetlerinden kaynaklanabilmektedir.



(A)



(B)



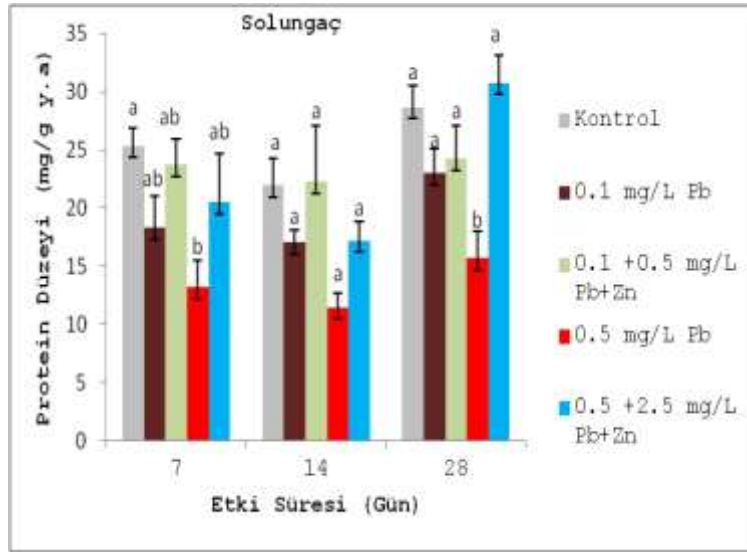
(C)

Şekil 1. Pb ve Pb+Zn karışımlarının etkisinde A;7. günde, B;14. günde; C;28. günde *O. niloticus*'un dokularındaki Pb düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.)

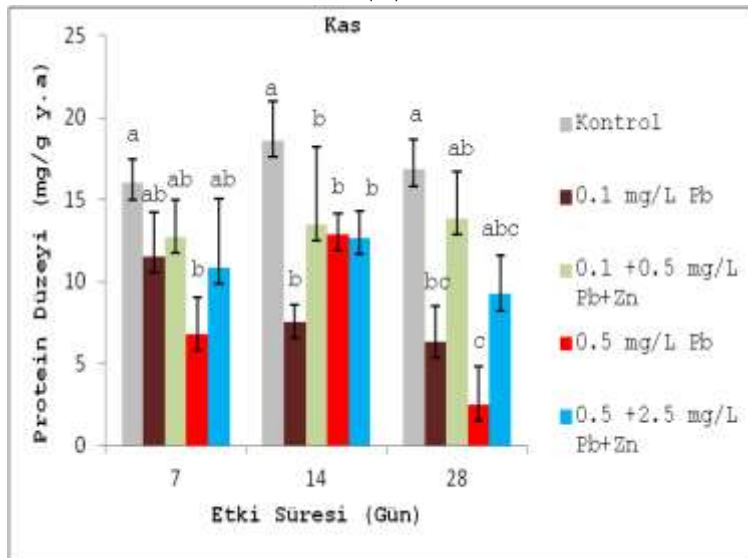
(Figure 1. Comparison of Pb levels in the Pb and Pb+Zn mixtures exposure A;7 days, B;14 days, C;28 days in the tissues of *O. niloticus*)

\*Belli bir etki süresinde ve aynı grupta dokular arasındaki farkı göstermektedir (P<0.05).

Kargın ve Çoğun [14] *T. nilotica* ile Zidar ve ark., [26] *Porcellio scabe* ile yaptıkları araştırmalarda Zn uygulamasının dokulardaki Cd birikimini önemli bir şekilde azalttığını bildirmişlerdir. Duran ve ark., [8] *Clarias gariepinus*'a Cu, Zn, Cd, Pb metalllerinin tek başına ve karışım halinde uygulanmasıyla dokulardaki birikim düzeyini incelemişlerdir ve en düşük metal birikimini kas dokusunda tespit etmişlerdir. Metal karışımlarının etkisinde tek başına metal etkisine göre birikim daha az çıkmıştır. Araştırmacılar bu durumun metal karışımının antagonistik etki yaptığını, bunun iz elementler ve toksik elementler arasındaki rekabetten kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir.



(A)



(B)

Şekil 2. Pb ve Pb+Zn karışımının farklı sürelerde *O. niloticus*'un A;solungaç, B;kas dokularında protein düzeyine etkileri. a, b, c harfleri belli bir sürede gruplar arası ayrımı göstermektedir (P<0.05)

(Figure 2. The effects of Pb and Pb+Zn mixtures on protein levels of A; gill, B;muscle of *O. niloticus* at the different periods. Letters a, b and c indicate differences among groups for a certain period)



Pb ve Pb+Zn karışımlarının etkisinde dokulardaki protein düzeyi kontrole göre azalmıştır. Protein düzeyindeki bu azalma denenen tüm sürelerde konsantrasyon artışına paralel olarak daha yüksek olmuştur. Solungaç protein düzeyi 28 günlük etki sonunda kontrole göre yaklaşık olarak 0.1 mg/L Pb konsantrasyonunda 3 kat, 0.5 mg/L Pb konsantrasyonunda 7 kat azalma göstermiştir. Düşük ve yüksek Pb ortam konsantrasyonlarının etkisinde ise kontrole göre yaklaşık olarak sırasıyla 7. günde %27, %48; 28. günde ise %20, %45 azalma olmuştur ( $P < 0.05$ ). Solungaçta düşük ortam konsantrasyonlarının etkisinde süreler arasında ve gruplar arasında önemli fark gözlenmemiştir ( $P > 0.05$ ) (Şekil 2 A). Palaniappan ve ark., [20] ağır metallerin etkisinde olan yenilebilir balık dokularında protein içeriğinin azaldığını bildirmişlerdir. Kas protein düzeyi yüksek Pb konsantrasyonunda 7, 14 ve 28 günlük süre sonlarında kontrole göre yaklaşık olarak sırasıyla %57-%59-%85; yüksek Pb+Zn konsantrasyonlarında ise %32-%31-%45 oranında azalma olmuştur.

Kas protein miktarı 28 günlük süre sonunda 0.5 mg/L Pb ortam konsantrasyonunda 7. ve 14. günlere göre yaklaşık 3 kat azalma gösterirken diğer ortam konsantrasyonlarında süreler arasında önemli fark gözlenmemiştir ( $P > 0.05$ ) (Şekil 2 B). Çalışmalar, metale maruz kalan balıkların kas dokularında protein miktarının azaldığını göstermektedir [23, 18 ve 9]. Yapılan çalışmada solungaç ve kas protein düzeyi Pb ve Pb+Zn karışımının konsantrasyonuna ve uygulama periyodundaki artışına bağlı olarak azalmıştır ve doğrudan Pb etkisinde azalma daha fazla olmuştur. Bu durum kirleticilerin hücre nükleoproteinleri ve nükleik asitler ile reaksiyona girmesi sonucu protein sentezinin ve hücresel bütünlüğün etkilenmesinden kaynaklanabilmektedir [22]. Pb, Pb+Zn karışımlarının etkisinde *O. niloticus*'un dokularında meydana gelen Pb birikimi detoksifikasyon mekanizmaları ile, protein düzeylerindeki değişimler de metallerin tetiklediği stres koşullarında, enerji gereksiniminin artmasından kaynaklanabilmektedir.

##### 5. SONUÇ VE ÖNERİLER (CONCLUSION AND RECOMMENDATIONS)

Bu araştırmada Pb ve Pb+Zn konsantrasyonlarının 7, 14 ve 28 gün süreleri sonunda *O. niloticus*'un solungaç ve kas dokularında metal birikimi ile protein düzeylerindeki değişimlerin, bu balık için Pb toksisitesinin bir belirteç olarak kullanılabilirliği ve Zn'nin bu durumu nasıl etkileyeceği incelenmiştir. Pb birikiminin dokularda ortam konsantrasyonunun ve uygulama periyodunun artmasına bağlı olarak arttığı saptanmıştır ve birikimin solungaçta kastan daha fazla olduğu kaydedilmiştir. Deneme süresince protein düzeyi ortam konsantrasyonunun ve uygulama periyodunun artmasına bağlı olarak azalmıştır. Pb'nin belirlenen konsantrasyonları etkisinde dokularda meydana gelen birikim balıkta strese bağlı olarak enerji gereksinimindeki artışa neden olmuştur. Bu durum da protein düzeylerinde azalma ile sonuçlanmıştır. Metallerin toksik etkilerinin belirlenmesi için kullanılan dokulardaki metal birikimi ve protein düzeyinin yanında oksidatif stres parametreleri de incelenebilir. Çeşitli metal etkilerinde dokulardaki metal birikimleri ve protein düzeyleri farklı sucul organizmalarda da araştırılabilir.

##### KAYNAKALAR (REFERENCES)

1. Al-Asgah, N.A., Abdel-Warith, A.A., Younis, E.M. and Allam, H.Y., (2015). Haematological and Biochemical Parameters and Tissue Accumulations of Cadmium in *Oreochromis niloticus* exposed to Various Concentrations of Cadmium Chloride. Saudi Journal of Biological Sciences. Sayı:22(5), ss:543-550.
2. Anderson, M.B., Preslan J.E., Jolibois L., Bollinger J.E., and George, W.J., (1997). Bioaccumulation of Lead Nitrate in Red



- Swamp Clayfish (*Procambarus clarkii*). Journal of Hazardous Materials, Sayı:54, ss:15-29.
3. Begum, G. and Vijayaraghavan, S., (1996). Alterations in Protein Metabolisms of Muscle Tissues in the Fish *Clarias batrachus* by Commercial Grade Dimethioate. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, Sayı:57, ss:223-228.
  4. Blasco, J. and Puppo, J., (1999). Effect of Heavy Metals (Cu, Cd and Pb) on Aspartate and Alanine Aminotransferase in *Ruditapes philippinarum* (Mollusca: Bivalvia) Comparative Biochemistry and Physiology, Pharmacology, Toxicology and Endocrinology, Sayı:122, ss:253-63.
  5. Cooper, N.L., Bidwell, J.R., and Kumar, A., (2009). Toxicity of Copper, Lead and Zinc Mixtures to *Ceriodaphnia dubai* and *Daphnia carinata*. Ecotoxicology and Environmental Safety, Sayı:72, ss:1523-1528.
  6. Çoğun, H.Y. ve Kargın, F., (2009). *Oreochromis niloticus*'un Solungaç Kas, Karaciğer ve Böbrek Dokularında Bakır ve Kurşun Birikimi. Ç.Ü. Fen Bilimleri Dergisi, Sayı:21(1), ss:19-29.
  7. Daka, E.R. and Hawkins S.J., (2006). Interactive Effects of Copper, Cadmium and Lead on Zinc Accumulation in the Gastropod Mollusc *Littorina saxatilis*. Water, Air and Soil Pollution, sayı:171, ss:19-28.
  8. Duran, S., Tunçsoy, M., Yeşilbudak, B., Ay, Ö., Cicik, B., and Cahit, E., (2015). Metal Accumulation in Various Tissues of *Clarias Gariepinus* Exposed to Copper, Zinc, Cadmium and Lead Singly and in Mixture. Fresenius Environmental Bulletin. Sayı:24(12c), ss:4738-4742.
  9. El-Serafy, S.S., Zowail, M.E., Abdel-Hameid Nassr-Allah, H., Awwad M.H., and Omar, E.H., (2013). Effect of diet borne Cu and Cd on body indices of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) with emphasis on protein pattern. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, Sayı:13, ss:593-602.
  10. Fırat, Ö., Çoğun, H.Y., Aslanyavrusu, S., and Kargın, F., (2009). Antioxidant responses and metal accumulation in tissues of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* under Zn, Cd and Zn + Cd exposures. Journal of Applied Toxicology, Sayı:29, ss:295-301.
  11. Gaspic, Z.K., Zvonaric, T., Vrgoc, N., Odzak, N., and Baric, A., (2002). Cadmium and Lead in Selected Tissues of Two Commercially Important Fish Species from The Adriatic Sea. Water Research, sayı:36, ss:5023-5028.
  12. Heath, A.G., (1987). Water Pollution and Fish Physiology. CRP Press Inc. 245 s. Florida.
  13. Hilmy, A.M., El-Domiaty N.A., Daabees A.Y., and Abdel-Latife, H.A., (1987). Toxicity in *Tilapia zilli* and *Clarias lazera* (Pisces) Induced by Zinc Seasonally. Comparative Biochemistry and Physiology, Sayı:86C, ss:263-265.
  14. Kargın, F. and Çoğun, H.Y., (1999). Metal Interactions During Accumulation and Elimination of Zinc and Cadmium in Tissues of the Freshwater Fish *Tilapia nilotica* Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, Sayı:63, ss:511-519.
  15. Karthikeyana, S. and Manib, P., (2014). Effect of Heavy Metals on Tissue Protein of an Edible Fish *Cirrhinus mrigala* as Dependent on pH and Water Hardness, Sayı:59(2), ss:321-325.
  16. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farra N.J., and Randall, R.J., (1951). Protein Measurements with the Folin Phenol Reagent. Journal of Biological Chemistry, Sayı:193, pp:265-275.
  17. Mason, A.Z. and Jenkins, K.D., (1995). Metal Detoxification In Aquatic Organisms. In: Tessier, A., Turner, D. (Eds.), Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems, ss:479-608. John Wiley and Sons, Chichester, UK.





18. Mohamed, F.A. and Gad, N.S., (2008). Environmental pollution induced biochemical changes in tissues of *Tilapia zillii*, *Solea vulgaris* and *Mugil capito* from Lake Qarun, Egypt Global Veterinaria, Sayı:2(6), ss:327-336.
19. Muramoto, S., (1983). Elimination of Copper from Cu-Contaminated Fish by Long Term Exposure to EDTA and Freshwater. Journal of Environmental Science and Health, A18 Sayı:(3), ss:455-461.
20. Palaniappan, P.R. and Pramod K.S., (2011). The effect of titanium dioxide on the biochemical constituents of the brain of Zebrafish (*Danio rerio*). An FT-IR study Spectrochimica Acta Molecular and Biomolecular Spectroscopy Part A: Sayı:79, ss:206.
21. Remyla, S.R., Ramesh, M., Sajwan, K.S., and Kumar, K.S., (2008). Influence of Zinc on Cadmium Induced Haematological and Biochemical Responses in a Freshwater Teleost Fish *Catla catla*. Fish Physiology and Biochemistry. Sayı:34, ss:169-174.
22. Sharaf-Eldeen, K. and Abdel-Hameid, N.H., (2002). Sublethal effects of copper sulfate, malathion and paraquat on protein pattern of *Oreochromis niloticus*. Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries, Sayı:6(2), ss:167-182.
23. Vutukuru, S.S., (2005). Acute Effects of Hexavalent Chromium on Survival, Oxygen Consumption, Hematological Parameters and Some Biochemical Profiles of the Indian Major Carp, *Labeo rohita*. International Journal of Environmental Research and Public Health, Sayı:2(3), ss:456-462.
24. Wallace, W.G., Lee B.G., and Luoma, S.N., (2003). Subcellular Compartmentalization of Cd and Zn in Two Bivalves. I. Significance of Metal-Sensitive Fractions (MSF) and Biologically Detoxified Metal (BDM). Marine Ecology Progress Series, Sayı:249, ss:183-197.
25. Wang, W.X. and Rainbow, P.S., (2006). Subcellular Partitioning and The Prediction of Cadmium Toxicity to Aquatic Organisms. Environmental Chemistry, Sayı:3, ss:395-399.
26. Zidar, P., Van Gestel, C.A.M., and Strus, J., (2009). Single and Joint Effects of Zn and Cd on *Porcellio scaber* (Crustacea, Isopoda) Exposed to Artificially Contaminated Food. Ecotoxicology and Environmental Safety, Sayı:72, ss:2075-2082.