

PAPER DETAILS

TITLE: Cyprinus carpio (L.)'da bakirin kas ve karaciger dokularindaki birikiminin total protein derisimi üzerine etkileri

AUTHORS: Bedii CİCİK,Özcan AY,Fahri KARAYAKAR

PAGES: 26-31

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/214351>

***Cyprinus carpio* (L.)’da bakırın kas ve karaciğer dokularındaki birikiminin total protein derişimi üzerine etkileri**

Bedii CİCİK¹, Özcan AY¹, Fahri KARAYAKAR²

¹ Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi MERSİN

² Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Balcalı/ADANA

ÖZET

Bu çalışmada, *Cyprinus carpio* (L.), bakırın 0,01, 0,05, 0,1 ve 0,5 ppm’lik ortam derişimlerinin etkisinde 7, 15 ve 30 gün sürelerle tutularak, kas ve karaciğer dokularındaki bakır birikiminin, total protein derişimi üzerine etkileri incelenmiştir. Belirlenen süre ve ortam derişimlerinin etkisinde kas ve karaciğer dokularındaki bakır birikimi atomik absorpsiyon spektrofotometrik, total protein derişimi ise spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir. Kas ve karaciğer dokularındaki bakır birikimi, ortam derişimi ve etkide kalma süresindeki artışa bağlı olarak artmıştır. Bakır etkisinde karaciğer dokusundaki total protein derişimi, belirli bir sürede ortam derişimindeki artışa ve belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresindeki artışa paralel olarak artarken, kas dokusunda azalmıştır.

Anahtar kelimeler: Bakır, birikim, *Cyprinus carpio*, protein

Effects of copper accumulation in muscle and liver tissues on total protein levels of *Cyprinus carpio* (L.)

ABSTRACT

Cyprinus carpio (L.) was exposed to 0.01, 0.05, 0.10 and 0.50 ppm copper for periods of 7, 15 and 30 days and the effects of accumulation in muscle and liver tissues on total protein levels were studied. Copper accumulation and total protein levels in the tissues studied were determined using atomic absorption spectrophotometric and spectrophotometric methods respectively. Muscle and liver accumulation of copper increased with increasing concentrations of copper and with exposure period. Total protein level in liver tissue increased and that of muscle tissue decreased with increasing concentrations of the metal at given period and with increasing exposure period at a given concentration.

Key words: Accumulation, copper, *Cyprinus carpio*, protein.

GİRİŞ

Nüfus artışı ile birlikte barınma problemlerinin çözümü için tarım alanlarının yerleşime açılması, kimyasal tarım uygulamalarındaki artış, teknolojik gelişmeye paralel olarak endüstriyel hammadde kaynaklarının yaygın bir şekilde kullanımı, fosil yakıtların aşırı tüketimi sonucu atmosferik olaylar, ağır metallerin sucul ortamlara katılımını arttırmıştır (Venkataramana ve Rhadhakrishaniah, 2001). Ağır metallerin belirtilen kaynaklardan sucul ortamlara katılımındaki artış, duyarlı türlerin ortadan kalkmasına neden olduğu gibi hoşgörüsü yüksek türlerin doku ve organlarında birikime, besin zinciri aracılığı ile artan derişimlerde üst trofik düzeylere iletilmesine neden olmaktadır (Heath, 1995).

Bakır, biyotik derişimlerde metabolik ve fizyolojik olaylar için gereksinim duyulan bir iz elementtir. Hayvansal organizmalarda, askorbik asit oksidaz, sitokrom oksidaz, tirozinaz, lizil oksidaz gibi yaklaşık 30 kadar enzimde prostetik grup olarak bakır bulunurken, seruloplazmin, hepatokuprein, hemosiyanin yapısal bileşiminde bakır bulunduran proteinlerdir (Arellano ve ark., 1999). Balıklarda doku ve organlardaki bakır derişimi, metabolik ve fizyolojik olaylar için gereksinim duyulan düzeyi aşması, hücresel veya moleküler düzeyde yapısal ve işlevsel bozukluklara sonuçta mortaliteye neden olmaktadır (Perkins ve ark., 1997).

Bakır etkisinin, balıklarda solungaç lamelleri epitelinde $Na^+ - K^+$ ATPaz aktivitesini inhibe ederek hipertropiye, elektrolit kaybını artırarak kardiovasküler sistemin çökmesine, oksijen transfer kapasitesini azaltarak doku düzeyinde hipoksiyaya (Heath, 1995; Handy, 2003), metal alımın kapasitesindeki artışa bağlı olarak karaciğer hücrelerinde hiperplasi ile stoplazmik vakuol ve lizozomal veziküllerin sayısındaki artışla hipertropiye, endokrin sistem aracılığı ile protein ve karbonhidrat metabolizmasında değişikliklere neden olduğu saptanmıştır (Vijayan ve ark., 1997).

Bakırın düşük derişimlerinin uzun süreli etkisi balıkların metabolik bakımdan aktif doku ve organlarında yüksek derişimlerde birikime neden olur (McGeer ve ark. 2000). Çeşitli balık türleri ile yapılan araştırmalarda bakırın karaciğer, solungaç, böbrek gibi doku ve organlarda yüksek derişimlerde birikirken, etkide kalma süresinin uzaması ile kas, beyin, ovaryum ve testiste de önemli düzeyde biriktiği belirlenmiştir (Cicik, 2003).

Balıklarda karbonhidratların yanı sıra doku proteinlerinin, önemli bir enerji kaynağı olması (Diane, 1982), metal detoksifikasyonunda işlev görmeleri, ağır metallerin dışında çeşitli stres faktörlerinin etkisinde kalitatif ve kantitatif derişim göstermesi metabolik olaylardaki değişiklikleri yansıtmaları bakımından oldukça önemlidir (Canlı, 1996).

Sucul ekosistemlerde besin zincirinin önemli bir halkasını oluşturan ve besin kaynağı olarak tüketilen balıklarda bakırın, düşük derişimlerinin uzun süreli etkisinde doku ve organlardaki birikim düzeyi ile fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerde neden olduğu derişimlerin incelenmesi, metal toksisitesinin belirlenmesine olanak sağladığından bu

araştırmada 7, 15 ve 30 gün sürelerle bakırın 0,01, 0,05, 0,1 ve 0,5 ppm'lik derişimlerinin etkisinde bırakılan *C. carpio*'nun kas ve karaciğer dokularındaki bakır birikimi ile total protein düzeyindeki derişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Araştırma materyali olarak kullanılan *Cyprinus carpio*, yetiştirme havuzlarından alınarak, deneylerin yürütüleceği 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık fotoperiyod uygulanan ve 25 ± 1 °C durağan sıcaklığa sahip laboratuvara getirilmiş, her biri (40×120×40) cm boyutlarında olan 6 adet stok cam akvaryum içerisinde 3 ay süreyle bekletilerek ortam şartlarına uyumları sağlanmıştır. Balıklar bu süre içerisinde ortalama $11,29 \pm 0,7$ cm boy ve $10,50 \pm 0,65$ g ağırlığa ulaşmıştır. Deneyler süresince ortamın bazı kimyasal özellikleri aşağıdaki şekilde belirlenmiştir.

pH: $8,19 \pm 0,06$

Toplam alkalinite: $326 \pm 0,50$ mg/l $CaCO_3$

Toplam sertlik: $230 \pm 0,75$ mg/l $CaCO_3$

Çözünmüş oksijen: $7,02 \pm 0,27$ mg/l

Balıkların karaciğer ve kas dokularındaki metal birikimi ile total protein düzeyindeki değişiklikler, bakırın, kaynak bilgisi ve araştırma biriminde yapılan çalışmalar sonucunda 30 günlük süre içerisinde letal olmadığı belirlenmiş, 0,01, 0,05, 0,1 ve 0,5 ppm'lik ortam derişimlerinin etkisinde 7, 15 ve 30 günlük 3 farklı zaman süreci sonunda belirlenmiştir.

Bu amaçla deneylerde her biri 40×120×40 cm boyutlarında olan 5 cam akvaryum kullanılmıştır. Akvaryumlardan ilk dördüne toplam hacim 120 şer L olacak şekilde sırasıyla 0,01, 0,05, 0,1 ve 0,5 ppm derişimindeki bakır çözeltisi konurken, beşinci akvaryuma belirtilen hacimde bakır içermeyen dinlendirilmiş çeşme suyu konularak kontrol grubu olarak incelenmiştir. Deney çözeltilerinin hazırlanmasında bakırın suda çözünebilen tuzlarından biri olan $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ kullanılmıştır. Deneyler, her tekrarda iki balık olacak şekilde 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür. Bu bağlamda tüm deneylerde kontrol ve deney akvaryumlarının her birinde 18 balık olacak şekilde toplam 90 balık kullanılmıştır. Akvaryumlarda havalandırma merkezi havalandırma sistemi ile sağlanmıştır.

Akvaryum ortamında adsorbsiyon, evaporasyon ve presipitasyon nedeniyle bakır derişiminde süreye bağlı derişimler olabileceğinden, deney çözeltileri, deney süresince her iki günde bir taze olarak hazırlanan stok çözeltiden uygun seyreltmeler yapılarak değiştirilmiş ve ortam yenilenmiştir.

Belirlenen 7, 15 ve 30 günlük süreler sonunda her bir akvaryumdan 6 tane balık çıkartılarak, MS – 222 (Etil ester 3–amino benzoik asit) çözeltisi içerisinde bayıltılmıştır. Çeşme suyu ile yıkanıp kurutma kâğıdı ile kurulan her bir altı balık ikişerli 3 gruba ayrılmıştır. Her gruptaki iki balıktan disekte edilen kas ve karaciğer dokuları iki kısma ayrılarak metal derişimi ve total protein düzeyinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

Bakır derişimi belirlenecek kas ve karaciğer doku örnekleri, 150 °C'de 72 saat süreyle sabit tartıma getirilip, kuru ağırlıkları belirlendikten sonra deney tüplerine aktarılıp ve üzerlerine nitrik asit – perklorik asit (2:1 v/v) karışımı

eklenerek 120 °C’de 60 dakika süreyle yakma işlemi tamamlanmıştır (Muramoto, 1983). Yakma işleminden sonra örnekler, polietilen tüplere aktararak, distile su ile toplam hacimleri 5 ml’ye tamamlanmış ve analize hazır hale getirilmiştir. Doku örneklerindeki bakır derişimi, Perkin – Elmer (2380) atomik absorbsiyon spektrofotometresinde belirlenmiştir.

Total protein düzeyi belirlenecek kas ve karaciğer doku örnekleri, yaş ağırlıkları belirlendikten sonra 0,3 M sükröz çözeltisi içerisinde homojenizatör (Ultra – Turrax ,T – 25) yardımıyla 24.000 devirde 5 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Homojenizasyonu bozan partiküller, homojenatların 2000 devirde 10 dak. süreyle santrifüjlenmesi sonucu ortamdan uzaklaştırılmıştır. Analize hazır hale

getirilen örneklerdeki total protein derişimi, Lowry yöntemine göre saptanmıştır (Wedemeyer ve Yasutake, 1977).

Deney verilerinin istatistik analizinde “Student Newman Keul’s” (SNK) testi kullanılmıştır (Rholf ve Sokal, 1969).

BULGULAR

Bakırın belirlenen süre ve ortam derişimlerinin etkisinde kas ve karaciğer dokularında üç tekrarlı olarak saptanan bakır derişimlerinin aritmetik ortalamaları ile istatistik analiz sonuçları sırasıyla Çizelge 1 ve Çizelge 2’de verilmiştir.

Bu çalışmada kontrol grubuna ait kas ve karaciğer doku örneklerinde değerlendirilebilir düzeyde bakır absorbansı alınamamıştır. Bu durum kontrol grubu doku örneklerindeki bakır derişiminin AAS’nin duyarlılık düzeyi altında olduğunu gösterdiğinden çizelgelerde DA olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 1. *Cyprinus carpio*’da bakırın karaciğer dokusundaki birikimi (µg cu/g k.a.) üzerine ortam derişimi ve sürenin etkileri

Derişim (ppm Cu)	Süre (Gün)		
	7	15	30
	X ± sx *	X ± sx *	X ± sx *
0,00	DA ^a	DA ^a	DA ^a
0,01	52,79 ± 0,78 ^{bs}	65,66 ± 1,03 ^{bt}	77,75 ± 1,17 ^{bx}
0,05	63,61 ± 1,29 ^{cs}	91,89 ± 1,69 ^{ct}	122,73 ± 1,45 ^{cx}
0,10	82,41 ± 2,18 ^{ds}	157,90 ± 3,16 ^{dt}	236,77 ± 1,45 ^{dx}
0,50	117,40 ± 2,31 ^{es}	216,95 ± 1,99 ^{et}	325,66 ± 6,36 ^{ex}

*: SNK: a, b, c, d ve e derişimler, s, t ve x harfleri süreler arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında P < 0,05 düzeyinde istatistik ayrım vardır.

X ± sx: Aritmetik ortalama ± Standart hata.

DA: Duyarlılık düzeyi altında.

Çizelge 2. *Cyprinus carpio*’da bakırın kas dokusundaki birikimi (µg cu/g k.a.) üzerine ortam derişimi ve sürenin etkileri

Derişim (ppm Cu)	Süre (Gün)		
	7	15	30
	X ± sx *	X ± sx *	X ± sx *
0,00	DA ^a	DA ^a	DA ^a
0,01	4,91 ± 0,21 ^{bs}	6,45 ± 0,15 ^{bt}	11,87 ± 0,34 ^{bx}
0,05	6,29 ± 0,24 ^{cs}	8,31 ± 0,14 ^{ct}	14,37 ± 0,30 ^{cx}
0,10	7,70 ± 0,29 ^{ds}	9,89 ± 0,23 ^{dt}	19,15 ± 0,30 ^{dx}
0,50	11,78 ± 0,09 ^{es}	15,99 ± 0,28 ^{et}	25,67 ± 0,33 ^{ex}

*: Açıklamalar Çizelge 1’de verilmiştir.

Belli bir zaman süreci dikkate alındığında, bakırın ortam derişimindeki artış, kas ve karaciğer dokularındaki bakır birikimini arttırmıştır. Bakırın incelenen ortam derişimlerindeki 10 katlık bir artış, kas ve karaciğer dokularındaki bakır birikiminde 1,5–2 katlık artışla sonuçlanmıştır. Belirli bir ortam derişiminde, etkide kalma süresindeki artış da doku ve organlardaki bakır birikimini arttırmıştır. 30 günlük deney süresi sonunda kas ve karaciğer dokularındaki bakır birikimi, 7. güne oranla 2,5 katlık artış göstermiştir. İncelenen tüm süre ve ortam derişimlerinin

etkisinde karaciğer dokusundaki bakır birikiminin, kasa oranla oldukça yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır.

Bakır etkisinde kas ve karaciğer dokularında üç tekrarlı olarak belirlenen protein düzeylerinin aritmetik ortalamaları ile istatistik analizleri sırasıyla Çizelge 3 ve Çizelge 4’de gösterilmiştir. Bakırın belirtilen süre ve ortam derişimlerinin etkisinde karaciğer protein derişimi, ortam derişimi ve etkide kalma süresindeki artışa paralel olarak artmıştır. Deney süresi sonunda incelenen en yüksek ortam derişiminin etkisinde bu artış yaklaşık 1,5 – 2 kat olmuştur.

Çizelge 3. *Cyprinus carpio*'da karaciğer dokusundaki protein düzeyi (mg/g y.a.) üzerine bakır ortam derişimlerinin süreye bağlı etkileri

Derişim (ppm Cu)	Süre (Gün)		
	7	15	30
	X ± sx *	X ± sx *	X ± sx *
0,00	44,55 ± 0,60 ^{as}	41,31 ± 0,66 ^{as}	43,21 ± 1,08 ^{as}
0,01	61,49 ± 1,96 ^{bs}	67,46 ± 2,60 ^{bs}	83,49 ± 0,79 ^{bt}
0,05	70,47 ± 0,52 ^{bs}	82,40 ± 2,02 ^{ct}	98,66 ± 2,83 ^{cx}
0,10	83,06 ± 1,27 ^{cs}	101,85 ± 3,22 ^{dt}	120,25 ± 1,92 ^{dx}
0,50	97,40 ± 3,95 ^{ds}	125,57 ± 2,23 ^{et}	165,99 ± 3,31 ^{ex}

*: Açıklamalar Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 4. *Cyprinus carpio*'da kas dokusundaki protein düzeyi (mg/g y.a.) üzerine bakır ortam derişimlerinin süreye bağlı etkileri

Derişim (ppm Cu)	Süre (Gün)		
	7	15	30
	X ± sx *	X ± sx *	X ± sx *
0,00	42,71 ± 0,99 ^{as}	41,24 ± 1,58 ^{as}	42,00 ± 2,04 ^{as}
0,01	31,71 ± 0,98 ^{bs}	24,60 ± 0,34 ^{bt}	21,30 ± 0,70 ^{bt}
0,05	29,21 ± 0,40 ^{bs}	25,72 ± 0,03 ^{bs}	19,94 ± 0,85 ^{bt}
0,10	29,16 ± 0,86 ^{bs}	17,64 ± 0,84 ^{ct}	13,00 ± 0,84 ^{ct}
0,50	22,68 ± 0,34 ^{cs}	14,83 ± 1,21 ^{ct}	9,22 ± 1,08 ^{cx}

*: Açıklamalar Çizelge 1'de verilmiştir.

Bakır etkisinde kalan balıkların kas protein düzeyi, 7, 15 ve 30 günlük etki sürelerinde bakırın ortam derişimindeki artışa bağlı olarak kontrole göre azalmıştır. 0,05 ppm ortam derişiminde 7 ve 15. günler, 0,01 ve 0,1 ppm ortam derişimlerinde 15 ve 30. günler dışında kas protein düzeyi etkide kalma süresi arttıkça azalmıştır. İncelenen ortam derişimlerinin etkisinde kas protein derişiminde saptanan düşme, deney süresi sonunda 7. güne oranla %45 düzeyinde olmuştur.

TARTIŞMA

C. carpio ile yapılan bu araştırmada, bakırın 0,01, 0,05, 0,1 ve 0,5 ppm'lik ortam derişimlerinin 7, 15 ve 30 gün süreyle etkisinde kalan balıklarda mortalite gözlenmemiştir. *Oreochromis niloticus* (Sağlamtimur ve ark., 2003) ve *C. carpio* (Erdem ve Kargın, 1992)'da bakırın subletal derişimlerinin 4 hafta süreyle etkisinin mortaliteye neden olmadığı, *Tilapia nilotica* (Cicik ve Erdem, 1992)'da bakırın 10 ppm'lik ortam derişiminin 30 - 60 günler arasında %100 oranında mortaliteye neden olduğu saptanmıştır. Balıklarda ağır metallerin mortalite üzerine etkisi her ne kadar türler arasında ayrım gösterse de (Thomas ve ark., 1986) belli bir derişim aralığının üzerinde etkide kalma süresindeki artışa süresinin uzaması ile karaciğerdeki bakır derişiminin solungaçtaki düzeyi geçtiği saptanmıştır. Bu durum, balıklarda solungaçların doğrudan doğruya ortamlara temas halinde olması ve başlıca alımın yolu olmasından kaynaklanmaktadır.

bağlı olarak mortalitenin arttığı görülür (Sanpera ve ark., 1983).

Bakırın belirlenen süre ve ortam derişimlerinin etkisinde mortalitenin gözlenmemesi çeşitli metabolik ve fizyolojik düzenlemelerle, metal etkisine adaptasyondan kaynaklanabilir. Bu düzenlemeler arasında; yüzmeye performansını düşürerek enerji rezervlerini metal etkisiyle mücadelede kullanma (Toguyeni ve ark., 1997), solungaç yapısındaki bozulmaya bağlı iyon kaybını gidermek için iyon regülasyonunun maksimum düzeye çıkartılması (DeBoeck ve ark., 2001), metalin, molekül ağırlığı yüksek bileşiklere bağlanmasını önlemek için metal bağlayıcı proteinlerin sentezindeki artış sayılabilir (Sorensen, 1991).

Balıklarda ağır metal birikimi, doku ve organlar arasında ayrım göstermekle birlikte, genellikle metabolik bakımdan *Oncorhynchus mykiss* (Melgar ve ark., 1997; Daglish ve Novak, 2002) ve *Scyliorhinus canicula* (Sanpera ve ark., 1983)'da bakırın diğer doku ve organlara göre en fazla karaciğerde biriktiği belirlenmiştir. *O. mykiss* (Dethloff ve ark., 1999) ve *Ictalurus nebulosus* (Brungs ve ark., 1973) da metal etkisinin başlangıcında bakırın solungaç dokusunda karaciğere oranla daha fazla biriktiği ancak etkide kalma

C. carpio ve *T. nilotica* ile yapılan bir araştırmada subletal derişimlerdeki bakırın kronik etkisinde en fazla metal birikimi *C. carpio*'da karaciğerde olurken, *T. nilotica*'da dalakta olduğu bunun da metabolik aktivite ile doku birikiminin türe

bağlı olarak değişim göstermesinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Erdem ve Kargın, 1992). Balıklarda karaciğer hücresi mitokondrileri (Akberali ve Earnshaw, 1982) ile lizozomlarının (Heath, 1995) metal iyonlarını etkin bir şekilde bağladığı saptanmıştır.

C. carpio ile yapılan bu araştırmada da bakırın belirlenen süre ve ortam derişimlerinin etkisinde en fazla karaciğerde biriktiği, bununda metallothionein ve glutatyon gibi metal bağlayıcı proteinlerin karaciğer hücrelerinde sentezlenmesinden ve hücre komponentlerinin bakırın belirgin bir şekilde alıkoymasından kaynaklandığı olasıdır.

Balıklarda kas dokusundaki ağır metal birikiminin diğer doku ve organlara göre çok düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir (Melgar ve ark., 1997; DeConto – Cinier ve ark., 1999; Cıık ve ark., 2004). Bu araştırmada da karaciğere oranla kas dokusundaki bakır birikiminin çok düşük düzeyde olduğu ve *C. carpio*'da kas dokusunun bakır birikimi bakımından aktif olmadığını göstermiştir.

Ağır metaller sucul organizmalarda protein metabolizmasını etkileyerek doku protein düzeyinde kantitatif değişimlere neden olmaktadır. Balıklarda serum albumini karaciğer orijinli olup, bakırın dolaşım sistemine alınması ve karaciğere taşınmasında işlev görmektedir (Cousins, 1985). *C. carpio*'da bakırın ortam derişimindeki artışın serum albumin derişimini arttırdığı saptanmıştır (Romanenko ve Yevtushenko, 1985).

Metallothionein ve glutatyon, toksik etkili ağır metalleri bağlayarak, enzim gibi molekül ağırlığı yüksek bileşiklere bağlanmasını engelleyen, toksisiteyi düşürücü, molekül ağırlığı düşük proteinlerdir. *Anguilla anguilla*'da karaciğer hücrelerindeki bakır birikiminin MT gen transkripsiyonunu arttırdığı belirlenmiştir (Noel – lambot ve ark., 1978).

KAYNAKLAR

- Akberali, H.A. and Earnshaw, M.J. (1982). Studies of the effects of zinc on the respiration of mitochondria from different tissues in the bivalve mollusc *Mytilus edulis* (L). Comp. Biochem. Physiol., 72C, (1), 149-152 pp.
- Almeida, J.A., Novelli, E.L.B., DalPai-Silva, M. and Alves Junior, R. (2001). Environmental cadmium exposure and metabolic responses of the Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*. Environ. Pollut., 114, 169-175 pp.
- Amirad, J.C, Amirad-Triquet, C. and Metayer, C. (1987). Comparative study of the patterns of bioaccumulation, toxicity and regulation of some metals in various estuarine and coastal organisms. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 106. 73-89 pp.
- Arellano, J.M., Storch, V. and Sarasquete, C. (1999). Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the Senegales Solea, *Solea senegalensis*. Ecotoxicology and Environ. Safety. 44, 62-72 pp.
- Brungs, W.A., Leonard, E.N. and Mckim, J.M. (1973). Actue and long-term accumulation of copper by the brown bullhead, *Ictalurus nebulosus*. J. Fish. Res. Bd. Can., 30, (4), 583-586 pp.
- Canlı, M. (1996). Effect of mercury, chromium and nickel glycogen reserves and protein levels in tissues of *Cyprinus carpio*. Tr.J. of Zoology, 20, 161-168 pp.
- Cıık, B ve Erdem, C. (1992). Effect of copper on the quantitative protein changes in liver and muscle tissues of *Tilapia nilotica*. Biyokimya Dergisi, Cilt XVII, Sayı: 1, 54-64 pp.
- Cıık, B. (2003). The effects of copper-zinc interaction on the accumulation of metals in liver, gill and muscle tissues of common carp (*Cyprinus carpio* L.). Ekoloji Çevre Dergisi, Cilt: 12, Sayı: 48, 32-36 pp.
- Cıık, B., Ay, Ö. and 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 pp.
- Cousins, R. J. (1985). Absorbtion, transport and hepatic metabolism of copper and zinc : special reference to metallothionein and ceruloplasmin. Physiological Reviewes, 65, (2), 238-309 pp.

- Daglish, R.W. and Nowak, B.F.(2002). Rainbow trout are a sensitive biomarker of short-term exposure to waterborne copper. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 43, 98-102 pp.
- DeBoeck, G., Gossel, M. and Wood, C. (2001). Sensitivity of the spiny dogfish (*Squalus acanthias*) to waterborne silver exposure. *Aquat. Toxicol.*, 54, 261-275 pp.
- DeConto-Cinier, C., Petit-Ramel, M. Faure, R., Garin, D. and Bouvet, Y. (1999). Kinetics of cadmium accumulation and elimination in carp *Cyprinus carpio* Tissues. *Comp. Biochem. Physiol.*, 122C, 345-352 pp.
- Dethloff, G.M., Bailey, H.C. and Maier, K.J.(1999). Effects of dissolved copper on select hematological, biochemical and immunological parameters of wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 40, 371-380 pp.
- Diane, J.S.(1982). An Experimental analysis of the metabolic rate and food utilization northern pike. *Comp. Biochem. Physiol.*, 71A, 395-401 pp.
- Erdem, C. ve Kargın, F. (1992). *Cyprinus carpio* ile *Tilapia nilotica*'nın karaciğer, dalak, barsak, solungaç ve kas dokularındaki bakır birikiminin karşılaştırmalı olarak araştırılması. *Biyokimya Dergisi*, XVII, 1, 13-27 pp.
- Fletcher, P.E. and Fletcher, G.L. (1980). Zinc and copper binding proteins in the plasma of winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*). *Can. J. Zool.*, 58, 609-613 pp.
- Handy, R.D. (2003). Chronic effects of copper exposure versus endocrine toxicity : Two sides of the same toxicological process. *Comp. Biochem. Physiol.* A135, 25-38 pp.
- Heath, A.G. (1995). Water pollution and fish physiology. 2nd edition, CRC Press, New York.
- 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. *Comp. Biochem. Physiol.*, 86C, 263-265 pp.
- Jana, S. and Sahana, S.S. (1988). Effects of copper, cadmium and chromium cations on the freshwater fish *Clarias batrachus* L. *Physiol. Bohemoslov.*, 37(1), 79-82 pp.
- McGeer, J.C., Szebedinszky, C., McDonald, D.G. and Wood, C.M. (2000). Effects of chronic sublethal exposure to waterborne Cu, Cd or Zn in rainbow trout. 1: ion-regulatory disturbance and metabolic costs. *Aquat. Toxicol.*, 50,231-243 pp.
- Melgar, M.J., Perez, M. Garcia, M.A., Alonso, J. and Miquez, B. (1997). The toxic and accumulative effects of short term exposure to cadmium in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Vet. Hum. Toxicol.*, 39 (2), 79-83 pp.
- Muramoto, S. (1983). Elimination of copper from cu – contaminated fish by long term exposure to EDTA and Freshwater. *J. Environ. Sci. Health*, A18 (3), 455-461 pp.
- Noel – Lambot, F., Gerday, C.H. and Disteché, A. (1978). Distribution of Cd, Zn and Cu in liver and gills of the eel *Anguilla anguilla* with special reference to metallothioneins. *Comp. Biochem. Physiol.*, 61C, 177-187 pp.
- Perkins, E.J., Griffin, B., Hobbs, M., Gollon, J., Wolford, L. and Schlenk, D. (1997). Sexual differences in mortality and sublethal stress in channel catfish following a 10 week exposure to copper sulphate. *Aquat. Toxicol.*, 37, 327-339 pp.
- Rohlf, J.F. and Sokal, R.R.(1969). "Statistical Tables" W.H. and Freeman and Company, San Francisco, 253 pp.
- Romanenko, V.D. and Yevtushenko, N.Y. (1985). The tissue accumulation of heavy metals and their influence on the biosynthesis in the fish organism. *symposia Biologica Hungarica*, 29, 299-311 pp.
- Sanpera, C., Vallribera, M. and Crespo, S.(1983). Zn, Cu and Mn levels in the liver of the dogfish exposed to Zn. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 31, 415-417 pp.
- Sağlamtimur, B., Cıçık, B. and Erdem, C. (2003). Effects of different concentrations of Copper+Cadmium mixture on the accumulation of copper in the gill, liver, kidney and muscle tissues of *oreochromis niloticus* (L). *Türk. J. Vet. Anim. Sci.*, 27; 813-820 pp.
- Sastry, K.V. and Subhadra, K. (1982) . Effect of cadmium on some aspects of carbohydrate metabolism in a freshwater catfish (*Heteropneustes fossilis*). *Toxicol. Lett.*, 14, 45-55 pp.
- Sorensen, E.M.(1991). Cadmium . In: Metal poisoning in fish. CRC. Press, Boca Raton, Florida, 175-234 pp.
- Thomas, D.G., Brown, M.W., Shurben, D., Solbe, JDFG, Cryer, A. and Kay, J.(1986). 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. *comp. Biochem. Physiol.*, 82, 55-62 pp.
- Toguyeni, A., Fauconneau, B., Boujard, T., Fositer, A., Kuhun, E.R., Mol, K.A. and Baroiller, J.F.(1997). Feeding behaviour and food utilisation in tilapia, *Oreochromis niloticus* : Effect of sex ratio and relationship with the endocrine status . *Physiology Behavior.*, 62, 273-279 pp.
- Venkataramana, P. and Radhakrishhnaiah, K. (2001). Copper Influenced changes in lactate dehydrogenase and G-6-PDH activities of freshwater teleost, *Labeo rohita* . *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 67,247-263 pp.
- Vijayan, M.M., Pereira, C., Grau, E.G. and Iwama, G.K. (1997). Metabolic responses associated with confinement stres in tilapia; The role of Cortisol. *Biochem. Physiol.*, 116C, No: 1,89-95 pp.
- Wendelaar-Bonga, S.E. (1997). The stress response in fish. *Physiol. Rev.*, 77, 591-625 pp.
- Wedemeyer, G. A. and Yasutake, W.T.(1977). Clinical methods for the assessment of the effects of environmental stress on health. *U.S. Tech. Pap. Fish Wildl. Serv.*, 89,1-18 pp.