


Midye (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) türünde çinko pritiyonun toplam hemosit sayıları üzerine etkileri

The effects of zinc pyrithione on total hemocyte counts of mussel (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819)

Selma Katalay^{1*} • Melike Merve Ayhan² • A. Çağlan Günel³

¹Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Şehit Prof. Dr. İlhan Varank Kampüsü, Manisa  <https://orcid.org/0000-0001-7024-5730>

²Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Şehit Prof. Dr. İlhan Varank Kampüsü, Manisa  <https://orcid.org/0000-0002-3696-486X>

³Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Bilimleri A.D, Ankara  <https://orcid.org/0000-0002-9072-543X>

*Corresponding author: katalayselma@gmail.com

Received date: 10.01.2019

Accepted date: 11.04.2019

How to cite this paper:

Katalay, S., Ayhan, M.M. & Günel, A.Ç. (2019). The effects of zinc pyrithione on total hemocyte counts of mussel (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 36(2), 185-189.
DOI: 10.12714/egejfas.2019.36.2.11

Öz: Bu çalışmada, 48 ve 96 saat süre ile 20 ve 40 µg/L subletal çinko pritiyona (ZnPT) maruz kalan denizel ortamdaki kontaminantları yüksek seviyede biriktiren Akdeniz midyelerinin (*Mytilus galloprovincialis*) toplam hemosit sayıları üzerindeki etkisi belirlenmiştir. Toplam hemosit sayımı, çevresel kirlenmelerin etkilerini incelemeye iyi bir biyoindikatördür. Çinko pritiyona maruz kalan midyelerde toplam hemosit sayılarının kontrol grubuna göre artış gösterdiği belirlenmiştir (p<0,05). Farklı kullanım alanları olan ve sucül ortama karışan bu maddenin düşük konsantrasyonlarının bile midyeleri olumsuz etkilediği saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Çinko pritiyon, antifouling, *Mytilus galloprovincialis*, hemosit

Abstract: In this study, the effect of Mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis*) which accumulate contaminants in the marine environment exposed to 20 and 40 µg/L sublethal zinc pyrithion (ZnPT) at high levels for 48 and 96 hours on total hemocyte counts was determined. Total hemocyte count is a good bioindicator to assess the effects of environmental pollutants. It was determined that total hemocyte counts were increased in mussels exposed to zinc pyrithione when compared to the control group (p<0.05). It has been found that this substance, which has different usage areas and contaminate aquatic environment, negatively effect the mussels even in low concentrations.

Keywords: Zinc pyrithion, antifouling, *Mytilus galloprovincialis*, hemocyte

GİRİŞ

Yirminci yüzyılın ikinci yarısında, nüfus artışındaki hızlanmaya bağlı olarak artan çevre kirliliği, yaşam kaynaklarının daha fazla kirlenmesine neden olmuş ve sonuçta ekosistemin bozulması giderek çok daha ciddi bir hal almıştır. İnsan sağlığı açısından önemli ve çevresel etkilere sahip olan kimyasal maddelerin etkilerinin belirlenmesi, ekotoksikoloji ve çevre sağlığı açısından önemli bir araştırma alanıdır.

Endüstriyel kaynaklı kirlilik, popülasyon artışı ve bunun sonucunda antropojenik aktivitenin artışı, akuatik ekosistemde dünya çapında bir problem haline gelmiştir. 1970 ve 1980'lerin sonlarında antifouling olarak

organo kalay bileşikler, gemicilik ve yat aktivitelerinin yüksek olduğu bölgelerde deniz organizmalarının dokularında, sedimentte ve su kolonunda yüksek konsantrasyonlarda saptanmıştır. Deniz suyu ile temas eden teknenin yüzeyi, deniz organizmaları ve diğer deniz canlıları tarafından kaplanmaya açıktır. Antifouling boyaların kullanılmasıyla teknelere zarar veren ve maddi sorunlarla birlikte zaman kayıplarına neden olan deniz canlılarının gemi karinalarına yapışması önlenmektedir. Antifouling kaplama günümüze kadar özellikle tribütin (TBT) gibi aktif ajanlarla yapılmış olup ve dünya çapında da tehdit oluşturmuştur (Duydu, 1993).

1990'lardan beri çeşitli biyositler, organotinlerin yerine geçmiştir. Bu bileşikler kalaylı organik bileşikler kadar etkin ancak onlar kadar doğaya ve organizmaya zararlı olmayan antifouling bileşiklerin geliştirilmesi için yoğun araştırmalar yapılmaktadır. Irgarol, diuron, çinko pritiyon ve bakır pritiyon ve Sea-Nine gibi çok çeşitli antifouling maddeler piyasaya sunulmuştur. Bu biyositlerin çevresel olarak organotin bileşiklere göre daha az zararlı olacağı düşünülmüştür. Bununla birlikte biyositlerin çevresel etkileri hakkında çok az bilgi vardır. Pek çoğunun toksik etkileri belirlenmiştir ancak çoğu hakkında kıyasal suları kirletme düzeyleri, organizmaya etkileri ve deniz ortamlarında yaratacakları potansiyel riskler hakkında yeterli bilgi yoktur (Harino,2004).

Çinko pritiyon organotin biyositlerin yerine alternatif olarak ilk defa 1990'larda Arch Chemicals (Norwalk, CT USA) tarafından piyasaya sunulmuştur. Günümüzde antifouling boyalarda organokalaylı bileşiklerin yerine en büyük umut olarak görülmüştür (Dahllof vd., 2005).

Çinko pritiyon (ZnPT), tıp alanında (deri hastalıkları tedavisinde, kozmetik sektöründe kepek önleyici şampuan yapımında); boya endüstrisinde (antifouling madde olarak yaygın biçimde uygulanan) kullanımı çok yaygındır. Bununla beraber sucul çevrede oluşturabileceği olumsuz toksik etkiler, deniz trafiğinin çok yoğun olduğu denizel ekosistemlerde toksisitesinin belirlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır (Marcheselli vd., 2010).

Çinko pritiyon bazlı antifouling boyalar özellikle Avrupa ve Kuzey Kore' de yaygın bir şekilde dünya çapında uygulanmaktadır. Tribütininin (TBT) yerine çinko pritiyon bazlı antifouling ürünler Avrupa da yat ve gemilerde sıklıkla kullanılmaktadır. Çinko pritiyon batılı ülkelerde en yaygın kullanılan biyositlerdir. Çinko pritiyon toksisitesinin denizel türlerde ultra trace konsantrasyonlarda bile toksik etkisi olduğu gösterilmiş olmasına rağmen uluslararası kommuniteler tarafından kıyasal çevre ve biyotada birikip kalıcı olduğu keşfedildikten sonra ancak çinko pritiyonun çevresel kaderine yönelik çalışmalara son zamanlarda odaklanılmıştır (Marcheselli vd., 2010; Marcheselli vd., 2011; Dahllof vd.,2005).

Son 10-15 yıldır kalaylı organikler kadar etkin ancak onlar kadar doğaya ve organizmalara zararlı olmayan antifouling bileşiklerinin geliştirilmesi için yoğun araştırma yapılmaktadır. Irgarol 1051, Sea Nine 211, bakır pritiyon ve çinko pritiyon gibi piyasaya sunulan çok çeşitli antifouling maddelerin pek çoğunun toksik etkileri belirlenmiştir. Ancak çoğu hakkında kıyasal sularda meydana getireceği toksik etki düzeyleri, organizmalara etkileri ve deniz ortamlarında yaratacakları potansiyel riskler konusunda yeterli bilgi yoktur (Okamura vd., 2004).

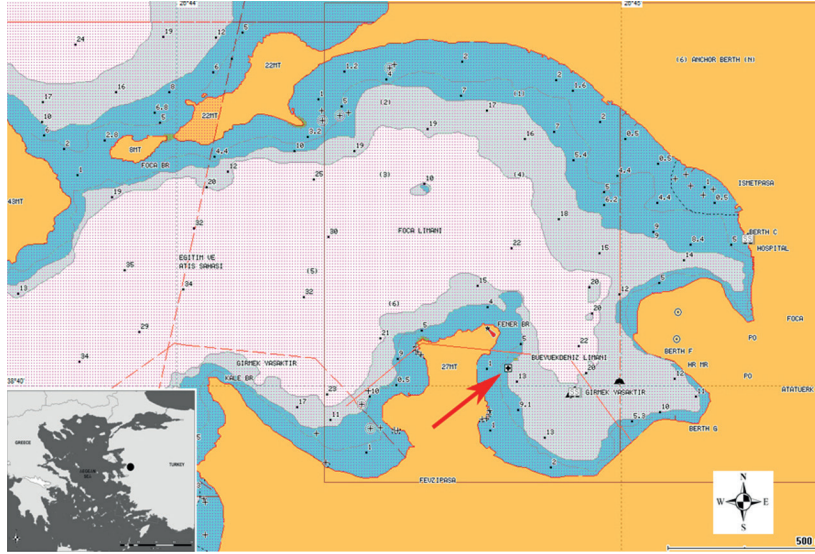
Çinko pritiyon, çok düşük konsantrasyonlarda dahi deniz canlılarına zararlı olabilir. Deniz canlılarının hayatta kalma, üreme, popülasyon durumuna dair parametreler üzerine olan etkileri tanımlanmıştır. Çinko pritiyonun subletal konsantrasyonlarına maruz kalan deniz midyelerinin dokularında birikebildiği belirtilmiştir. Bu bileşiklerin deteksiyon limitleri marina içinden alınan midyelerde tanımlanmıştır (Marcheselli vd., 2010).

Bivalve mollusklar dünya çapında yaygın bir dağılışa sahip olmaları ve sedenter yaşam sürdürüp filtre ederek beslenme şekillerinden dolayı, besin kaynakları olan kimyasal kirleticileri ve bakterileri akümüle ederler ve bunun sonucunda bağışıklık sistemi olumsuz yönde etkilenir (Fisher vd.,2000).

Midyeler kontaminantların da dahil olduğu değişen çevresel faktörlere maruz kalan açık dolaşım sistemine sahiptir. Bivalvelerin immün defansında hemositler, amaboid lokomasyon yeteneğine sahiptirler ve bağışıklık savunmasında anahtar rol oynamaktadırlar (Cheng, 1981). Çalışmamızda bu bilgilerin ışığında sucul canlılara toksisitesi ve hedef olmayan canlılar üzerine muhtemel olumsuz etkileri nedeniyle, Çinko pritiyonun, *Mytilus galloprovincialis* türü midyelerde akut toksik etkileri araştırılmıştır ve bu kimyasalın midyeler üzerindeki olası toksik etkileri immünolojik yönden değerlendirilmeye çalışılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada kullanılan Akdeniz midyesi (*Mytilus galloprovincialis*) İzmir İli, Foça (N38°40.037 E26°44.748') ilçesinden toplanmış (Şekil 1), deniz suyu içerisinde laboratuvar ortamına ulaştırılmıştır. Deney öncesi bir hafta süre ile akvaryumlarda uyum periyoduna (pH:7.88, Sıcaklık: 17.5 ± 1°C) tabi tutulmuşlardır. Yapay deniz suyu Coral Pro Salt (Red Sea Europe, France) kullanılarak hazırlanmıştır. Deneylerde 15 L'lik akvaryumlar kullanılmış, 15'er midye (ort. boy 4.18 cm, n = 90) stoklanmıştır. Midyeler, 96 saatlik süre ile 20 ve 40 µg/L çinko pritiyona ZnPT (CAS no: 13463-41-7 Sigma Aldrich) maruz bırakılmıştır. Zn PT medikal firmadan temin edilmiştir. 48 ve 96 saat sonunda addüktör kası uyarılarak insülin enjektörü yardımıyla hemolenf örnekleri 1 ml olarak alınmıştır. Hemolenf örnekleri 1:1 oranında hemolenf ve %4 lük formalin olacak şekilde 2.5' luk enjektörlerle çekilmiştir. Toplam hemosit sayımı Thoma lamı kullanılarak ışık mikroskobu altında yapılmıştır. (Günel vd. 2018). İstatistik değerlendirmede Kruskal Wallis testi uygulanmıştır.



Şekil 1. Örneklem istasyonu
Figure 1. The sampling station

BULGULAR

96 saatlik süre ile ön denemelerle belirlenen 20 ve 40 µg/L Çinko pritiyona maruz bırakılan midyelerde, 48. saatte 40 µg/L ile, 96. saatte hem 20 hem de 40 µg/L Çinko pritiyona konsantrasyonuna maruz kalan midyelerde toplam hemosit sayılarının kontrol grubuna göre artış gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 2). Denemelerde her akvaryumda 15'er adet midye olacak şekilde (toplam n=90) midye kullanılmıştır.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Kan Parametreleri, organizmanın fizyolojik koşulları ve onların ortamlarındaki fizikokimyasal değişikliklere cevabın değerlendirilmesinde önemli bir araç olarak tanımlanmıştır (Ittoop vd., 2009).

Yüksek seviyedeki kontaminantlar, estuarin havza ve kıyılarda yaşayan sucül canlıları hastalıklara daha yatkın hale getirmektedir. Kronik maruziyet sonucu larval anomallikler, doku bozuklukları, kabuklu iskelet deformitelerine sebep olmaktadır. İmmün sistemdeki herhangi bir değişiklik organizmanın çevresel stresten ne kadar etkilendiğini göstermektedir (Ittoop vd., 2009).

Bivalvlerde hücresel ve ve humoral komponentler koordineli bir şekilde yürümektedir. Hücresel cevaplar, fagositoz ve sitotoksik reaksiyonlarla mikroplarla savaşıyor hemositlerle gerçekleşmektedir. Dolaşım hücreleri veya hemositler öncelikle immün defanstan sorumludur. Molusklar da immün cevap, bakteri,

fungus ve parazitlere karşı önemli bir defans fonksiyonudur. İnvertebratlarda sağlıklı bir immün sistem, organizmanın büyüme, gelişme ve hastalıklara yakalanma riskinin belirlenmesinde önemli role sahiptir. Organizmanın hücresel immün sisteminin araştırılması, kontaminantlara kronik,subletal maruziyet tayininde çok yararlı bilgiler edinmemizi sağlamaktadır. (Chu ve Hale, 1994; Pipe ve Coles vd., 1995). Kontaminantlara maruziyetin, immün cevabın yükselmesine neden olduğu belirtilmiştir. Kirleticilere maruz kalan organizmaların hemosit sayısında ve fagositoz oranında artış olduğu belirtilmiştir (Fisher vd., 2000). Kontaminant etkisi sonucusirküle olmayan hemositlerden dolayı sirkülatory sistemin duvarına yapışması gereken hemositler, kontaminant maruziyetini takiben dolaşım sistemine doğru hareket ettiği için hemosit sayısında artış gözlenmektedir (Baier-Anderson ve Anderson, 2000).

İnvertebrat immün sisteminde hücresel bağışıklık, hemosit fonksiyonu ile humoral bağışıklık ise serum faktörleriyle sağlanmaktadır. Bununla birlikte her iki sistem birbirleriyle koordineli olarak çalışmaktadır. Mollusklarda çevresel koşullardaki değişiklik hem hücresel hemde humoral bağışıklık mekanizmasını etkilemektedir. (Cheng, 1981).

İmmün sistemin hücresel ve humoral komponentlerinin çevresel kirleticiler ile interaksyonu sonucu immün sistem ya baskılanır ya da stimüle olur (Chima vd., 1999). Stresli koşullar altında ya da kısa sürede düşük seviyede kontaminantlara maruziyette

hemosit sayısında önemli artış olduğu gözlenmektedir (Anderson,1981; Moore, 1988; Renwranztz, 1990).

Daha önceki çalışmalarda ağır metal kirliliğın etkisiyle total hemosit sayısında artış olduğu belirlenmiştir (Pickwell ve Steinert, 1984; Pipe vd.,1995, 1999; Fisher vd.,2000). Gastropod abalone, *Haliotis diversicolor* üzerinde TBT ve benzo[a]pyrene'nin (BaP) immün sistemine etkisinin incelendiği bir başka çalışmada, subletal BaP konsantrasyonuna uzun süreli kronik maruz kalmanın bağışık ilişkili parametrelerin aktivitesinde değişim olarak immüno kompetansını modüle ettiği gözlenmiştir (Gopalakrishnan vd., 2011).

CdCl₂ bileşine maruz kalan istiridyelerde doza bağlı olarak total hemosit sayısında artış olduğunu gözlemiştir (Hannam vd., 2010). Çalışmamızda çinko pritiyona (ZnPT) maruz kalan midyelerde (*Mytilus galloprovincialis*) total hemosit sayılarının kontrol grubuna göre artış gösterdiği belirlenmiştir. Bu bulgulara benzer olarak çinko pritiyonun yarattığı strese bağlı olarak toplam hemosit sayısında artış

gözlenmiştir. Günal vd, (2018) 24 ve 96 saat süre ile 10 ve 30 µg/L subletal bakır pritiyona maruz kalan midyelerde toplam hemosit sayıları kontrol grubuna göre azaldığı belirlenmiştir. Bununla beraber çalışmamızda çinko pritiyona maruz kalan midyelerin toplam hemosit sayısında arttığı gözlemlenmiştir. Canlılar toksik maddeyle karşılaştıkları zaman immunolojik yanıt olarak total hemosit sayılarında artma ya da azalma şeklinde verebildiği görülmektedir.

Total hemosit sayısındaki artışın çevresel stresörlere en yaygın cevap olduğu belirlenmiştir (Coles vd.,1994). Sonuç olarak çinko pritiyonun total hemosit sayısındaki değişikliğin antifouling ve diğer denizel ekosisteme bulaşan kirleticilerin etkilerinin incelenmesinde uygun bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği belirlenmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Manisa Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Koordinasyon birimi (BAP) 2014-154 nolu proje tarafından desteklenmiştir.

Tablo 1. Çinko pritiyona maruz kalan midyelerin toplam hemosit sayılarındaki (THS) değişim

Table 1. Changes in total hemocyte counts (THC) of mussels exposed to zinc pyrithione

Konsantrasyon	48 saat	96 saat
Kontrol	398064,5±39712,0a*	328387,1±20230,0a
20 µg/L ZnPT	357419,4±20567,0a	813548,4±27923,0c
40 µg/L ZnPT	698709,7±27962,0b	928387,1±16817,0c

*Aynı satır ve sütunlarda küçük harfler arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (P<0,05)

KAYNAKÇA

- Anderson R.S (1981). Effects of carcinogenic and non-carcinogenic environmental pollutants on immunological functions in marine invertebrates. In: Dawe ,C.J., Harshbarger, J.C., Kondo, S., Sagimura T & Takayama, S., (Eds.) Phylogenetic approach to cancer. *Japan Sci Soc Press*, Tokyo, 319–331
- Baier-Anderson, C. & Anderson, R. S. (2000). The Effects of Chlorothalonil on Oyster Hemocyte Activation: Phagocytosis, Reduced Pyridine Nucleotides, and Reactive Oxygen Species Production. *Environmental Research*, 83(1), 72-78.
DOI: [10.1006/enrs.1999.4033](https://doi.org/10.1006/enrs.1999.4033)
- Cheng, C. 1981) Bivalves, In Invertebrate Blood Cells 1 (NA.Ratcliffe&A.F Rowley/ (Eds) *Academic Press*, London , 233-300.
- Coles, J. A., Farley, S. R. & Pipe, R. K. (1994). Effects of fluoranthene on the immunocompetence of the common marine mussel, *Mytilus edulis*. *Aquatic Toxicology*, 30(4), 367–379.
DOI: [10.1016/0166-445x\(94\)00051-4](https://doi.org/10.1016/0166-445x(94)00051-4)
- Chu, F.-L. E. & Hale, R. C. (1994). Relationship between pollution and susceptibility to infectious disease in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. *Marine Environmental Research*, 38(4), 243–255. DOI: [10.1016/0141-1136\(94\)90026-4](https://doi.org/10.1016/0141-1136(94)90026-4)
- Chima, F., Marin, M.G., Matozzo, V., Da Ros, L., Ballarin, L., 1999. Biomarkers for TBT immunotoxicity studies on the cultivated clam *Tapes philippinarum* (Adams and Reeve, 1850). *Mar. Pollut. Bull.* 39, 112–115
- Duydu, Y., (1993). Organokalay Bileşiklerinin Yarattıkları Önemli Çevre Sorunları. *Ecotoxicological Problems of Organotin Compounds Ankara Eczacılık Fakültesi, Dergisi*, 22: 1-2.
DOI: [10.1501/eczfak_0000000145](https://doi.org/10.1501/eczfak_0000000145)
- Dahllof, I., Grunnet, K., Haller, R., Hjorth, M., Maraldo, K. & Petersen, D.G., (2005). Analysis, Fate and Toxicity of Zinc- and Copper Pyrithione in the Marine Environment. *Nordem*, 505: 1-33.
DOI: [10.6027/TN2005-550](https://doi.org/10.6027/TN2005-550)

- Fisher, W. S., Oliver, L. M., Winstead, J. T. & Long, E. R. (2000). A survey of oysters *Crassostrea virginica* from Tampa Bay, Florida: associations of internal defense measurements with contaminant burdens. *Aquatic Toxicology*, 51(1), 115–138.
DOI: [10.1016/s0166-445x\(00\)00082-5](https://doi.org/10.1016/s0166-445x(00)00082-5)
- Gopalakrishnan, S., Huang W. B., Wang Q. W., Wu M. L., Liu J. & Wang K. J. (2011). Effects of tributyltin and benzo[a]pyrene on the immune-associated activities of hemocytes and recovery responses in the gastropod abalone, *Haliotis diversicolor*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 120-128.
- Günel, A.Ç., Erkmen, B., Katalay, S., Ayhan, M.M., Gül, G. & Erkoç, F. (2018). Determinations of the effects antifouling copper pyrithione on total hemocyte counts of mussel (*Mytilus galloprovincialis*). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 35(1): 15-17. DOI: [10.12714/egejfas.2018.35.1.03](https://doi.org/10.12714/egejfas.2018.35.1.03)
- Harino, H. (2004). Occurrence and degradation of representative TBT free antifouling biocides in aquatic environment. *Coastal Marine Science*, 29:28-39.
- Hannam, M.L., Bamber, S., Galloway, T., Moody, A.J. & Jones, M., (2010). Effects of the model PAH phenanthrene on immune function and oxidative stress in haemolymph of the temperature scallop *Pecten maximus*. *Chemosphere*, 78: 779-784.
DOI: [10.1016/j.chemosphere.2009.12.049](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.12.049)
- Ittoop, G., George, K. C., Ranimary, G., Sobhana, K. S., Sanil, N. K & Nisha, P. C. (2009). Effect of copper toxicity on the hemolymph factors of the Indian edible oyster, *Crassostrea madrasensis* (Preston) *Indian Journal of Fisheries*, 56: 301-306.
- Marcheselli, M., Azzoni, P. & Mauri, M. (2011). Novel antifouling agent-zinc pyrithione: Stress induction and genotoxicity to the marine mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Aquatic Toxicology*, 102(1-2), 39–47. DOI: [10.1016/j.aquatox.2010.12.015](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.12.015)
- Marcheselli, M., Rustichelli, C. & Mauri, M. (2010) Novel anti-fouling agent zinc pyrithione: determination, acute toxicity and bioaccumulation in marine mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Environmental Toxicology Chemistry*, 29: 2583–2592.
DOI: [10.1002/etc.316](https://doi.org/10.1002/etc.316)
- Marcheselli, M., Conzo, F., Mauri, M. & Simonini, R. (2010). Novel antifouling agent-zinc pyrithione: short and long-term effect on survival and reproduction of the marine polychaete *Dinophilus gyrociliatus*. *Aquat. Toxicol. Chem.* 29, 2583-2592.
- Moore, M.N. (1988) Cytochemical responses of the lysosomal system and NADPH ferrihemoprotein reductase in molluscan digestive cells to environmental and experimental exposure to xenobiotics. *Marine Ecology Progress Series*, 46:81–89.
DOI: [10.3354/meps046081](https://doi.org/10.3354/meps046081)
- Okamura, H., Watanabe, T., Aoyama, I., Hasobe, M., (2002). Toxicity evaluation of new antifouling compounds using suspension-cultured fish cells. *Chemosphere* 46, 945–951.
- Prakash, J., Nirmalakhandan, N., Sun, B. & Peace, J., 1996. Toxicity of binary mixtures of organic chemicals to microorganisms. *Water Research* 30, 1459–1463.
- Pickwell, G. V & Steinert, S. A.,(1984). Serum biochemical and cellular responses to experimental cupric ion challenge in mussels. *Marine Environmental Research*, 14: 245-267.
DOI: [10.1016/0141-1136\(84\)90081-3](https://doi.org/10.1016/0141-1136(84)90081-3)
- Pipe, R., Coles, J. , Thomas, M. , Fossato, V. . & Pulsford, A. . (1995). Evidence for environmentally derived immunomodulation in mussels from the Venice Lagoon. *Aquatic Toxicology*, 32(1), 59–73. DOI: [10.1016/0166-445x\(94\)00076-3](https://doi.org/10.1016/0166-445x(94)00076-3)
- Pipe, R., Coles, J., Carissan, F. M. & Ramanathan, K. (1999). Copper induced immunomodulation in the marine mussel, *Mytilus edulis*. *Aquatic Toxicology*, 46(1), 43–54.
DOI: [10.1016/s0166-445x\(98\)00114-3](https://doi.org/10.1016/s0166-445x(98)00114-3)
- Renwranz, L.(1990). Internal defense system of *Mytilus edulis*. In: Stefano GB (ed) *Studies in neuroscience, neurobiology of Mytilus edulis*. Manchester University Press, Manchester, 256–275.