

Oreochromis niloticus dokularında alüminyum toksisitesi üzerine kalsiyumun koruyucu etkisi

The protective effect of calcium on aluminum toxicity in *Oreochromis niloticus* tissues

Hikmet Y. Çoğun* • Gönül Uras

Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kilis, Türkiye
*Corresponding author: hcoğun@kilis.edu.tr

Abstract: In our study, the protective effect of calcium on the accumulation of aluminum in muscle, liver, gill and kidney of *Oreochromis niloticus* were investigated. The fish were exposed to 0.1 mg lt⁻¹ Al, 0.1 mg lt⁻¹ Al+0.1 mg lt⁻¹ Ca, 0.1 mg lt⁻¹ Al+1.0 mg lt⁻¹ Ca and 1.0 mg lt⁻¹ Al, 1.0 mg lt⁻¹ Al+1.0 mg lt⁻¹ Ca and 1.0 mg lt⁻¹ Al+10.0 mg lt⁻¹ Ca mixtures for 7, 14 and 21 days. Aluminum accumulations in tissues were measured by ICP-MS. Aluminum accumulation exposure tissues highest accumulation occurred in the kidney followed by gill, liver and muscle. In all exposure period, accumulation of aluminum in whole tissues of *O. niloticus* decreased in the presence of calcium. In both mixed exposure (Al+Ca) concentrations, significantly reduced the accumulation of aluminum in the kidney, gill and liver of *O. niloticus*.

Keywords: Aluminum, Calcium, Accumulation, *Oreochromis niloticus*.

Özet: Çalışmamızda, kalsiyumun *Oreochromis niloticus*'un kas, karaciğer, solungaç ve böbrek dokularında alüminyum birikimi üzerine engelleyici etkileri incelenmiştir. Balıklar 7, 14 ve 21 gün sürelerle 0.1 mg lt⁻¹ Al, 0.1 mg lt⁻¹ Al+0.1 mg lt⁻¹ Ca, 0.1 mg lt⁻¹ Al+1.0 mg lt⁻¹ Ca ve 1.0 mg lt⁻¹ Al, 1.0 mg lt⁻¹ Al+1.0 mg lt⁻¹ Ca ve 1.0 mg lt⁻¹ Al+10.0 mg lt⁻¹ Ca karışımının etkisine bırakılmıştır. Dokularda alüminyum birikimi ICP-MS ile belirlenmiştir. Çalışılan dokularda en yüksek alüminyum birikimi böbrek dokusunda oluşmuş, bunu solungaç, karaciğer ve kas dokusu izlemiştir. Etkide kalınan tüm sürelerde *O. niloticus*'un dokularında alüminyum birikimi kalsiyum varlığında azalmıştır. Denenen tüm karışımlarda (Al+Ca) *O. niloticus*'un böbrek, solungaç ve karaciğer dokularında alüminyum birikimini önemli ölçüde engellemiştir.

Anahtar kelimeler: Alüminyum, Kalsiyum, Birikim, *Oreochromis niloticus*.

GİRİŞ

Alüminyum periyodik cetvelin III A grubu elementlerinden olup, atom numarası 13 olan yumuşak ve hafif bir metal olup mat gümüşümsü renktedir. Alüminyum günümüz tıbbında kan durdurucu ve damar büzücü olarak kullanılmaktadır. Alüminyum doğada denge halinde bulunur Yerkabuğunun %8'i alüminyumdan oluştuğu gibi besinlerde, suda ve hayvansal dokularda bol miktarda bulunmaktadır (Koivistoinen, 1980). Alüminyum canlı organizmalarda besin yoluyla çok düşük düzeylerde alınım olmaktadır. Bu düşük seviyeli alüminyum zararlı değil, fakat yüksek konsantrasyonlarda son derece zehirli olmaktadır.

Alüminyum tatlı su balıklarında akut iyon regulasyonu rahatsızlıklarına hatta solungaçlarda Al³⁺olarak depolanmasına sebep olur (Poleo, 1995). Alüminyum balık solungaçlarını fonksiyonlarını etkilediğinden iyon regulasyonu ve solunumu etkiler (Neville, 1985; Howells vd., 1994). Alüminyum birçok katyonlar Ca, Mg, Na ve H'lerle balık solungaç yüzeylerine bağlanmada rekabet eder (Exley vd., 1991).

Su ortamının sıcaklığı (Heath, 1987), pH'sı (Cogun ve

Kargin, 2004), tuzluluğu (Viarengo, 1985) ve suyun sertliği (Wood, 2001) gibi su değişkenleri balığın metal alım düzeyini ve toksisitesini etkilemektedir. Bu gibi çevresel faktörlerin yanı sıra balığın yaşı, ağırlığı, metabolik aktivitesi, beslenme alışkanlığı, üremesi gibi faktörlerde metal alımını ve toksisitesini etkilemektedir (Heath, 1987; Romeo vd., 2000).

Kalsiyumun suyun kalitesini belirtmede ve canlı organizmada verimliliğin artışında çok önemli bir iyon olduğu belirtilmiştir (Berntssen vd., 2003). Genel olarak sucul organizmalarda kalsiyum yapısal, elektriksel iletimde kasların kasılmasında salgı hücrelerinin sekresyonunda, ekstraselüler protein ve enzimlerde kofaktör olarak ve intraselüler regülasyonda önemli biyolojik işlevleri olan bir iyondur (Hunn, 1985). Kalsiyum yapısal olarak kemik, pul gibi iskelet dokularında hem de yumuşak dokularda (membran akıcılığı ve bütünlüğü, hücre adhezyonu) önemli işlevi bulunmaktadır.

Son yıllarda yapılan araştırmalar bize göstermiştir ki kalsiyum ve diğer ağır metaller örneğin çinko solungaç alımın bölgesinde rekabete girmiştir (Hongstrand vd., 1998). Hem kalsiyum hem çinkonun solungaçlardaki giriş bölgesi klorit

hücrelerinin apikal zarlarıdır (Hongstrand vd.,1995; Galvez vd., 1998; Sproy ve Wood, 1998).

Bu çalışmada; 7, 14 ve 21 günlük uygulama sürelerinde *Oreochromis niloticus* balıklarında alüminyum toksisite etkisinin gideriminde kalsiyum kullanılarak incelenmiştir. Alüminyum+kalsiyum (Al+Ca) etkisinde balıklarda solungaç, kas, karaciğer ve böbrek dokularında metal birikimi ve kalsiyumun alüminyum toksisitesinde koruyucu etkisi araştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bu araştırma Ekim ayında *Oreochromis niloticus*'lar Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi yetiştirme havuzlarından alınarak ve üç ay süre ile 40X100X40 cm boyutlarındaki dokuz (9) stok akvaryum içerisinde laboratuvar koşullarına adaptasyonları ve uygun boy-ağırlığa ulaşması sağlanmıştır. Balıklar 3 ay süre sonunda 12.55±0.19 cm boy ve 24.18±1.51 g ağırlığına ulaşmışlardır.

Deneyler 20±1 °C sıcaklıkta yürütülmüş, akvaryumlar merkezi havalandırma sistemi ile havalandırılmış ve günde sekiz saat aydınlanma (8 saat gündüz/16 saat gece) periyodu uygulanmıştır. Balıklar, günde iki kez olmak üzere balık ağırlığının %1'i kadar hazır balık yemi (Pınar Balık Yemi, Türkiye) ile beslenmiştir.

Deney iki seri olarak yürütülmüştür. Birinci seride 7, 14 ve 21 gün sürelerde alüminyumun 0.1 mg lt⁻¹ derişimi, 0.1 mg lt⁻¹ Al + 0.1 mg lt⁻¹ Ca ve 0.1 mg lt⁻¹ Al +1.0 mg lt⁻¹ Kalsiyum, ikinci seride alüminyumun 1.0 mg lt⁻¹ ortam derişimi, 1.0 mg lt⁻¹ Al +1.0 mg lt⁻¹ Ca ve 1.0 mg lt⁻¹ Al +10.0 mg lt⁻¹ kalsiyum maruz bırakılmıştır.

Deneylerde her bir seride 40X100X40 cm. boyutlarında olan ve her birinin içerisinde 18 balık bulunan 4 cam akvaryum kullanılacak şekilde iki seride yapılmıştır. Birinci seride bu akvaryumlardan herbirine 50'şer litre su ve ilkinde 0.1 mg lt⁻¹ alüminyum derişimi, ikincisine 0.1 mg lt⁻¹ Ca derişimi ve son olarak üçüncüsüne 10 katı kadar (1.0 mg lt⁻¹) kalsiyum alüminyum ile birlikte (0.1 mg lt⁻¹ Al +1.0 mg lt⁻¹ Ca) çözeltileri konulmuştur. İkinci seride ise ilk akvaryuma 1.0 mg lt⁻¹ alüminyum derişimi ikincisine aynı alüminyum derişimli Ca ve üçüncüsüne 10 katı kadar (10.0 mg lt⁻¹) Ca alüminyum ile birlikte (1.0 mg lt⁻¹ Al+10.0 mg lt⁻¹ Ca) çözeltileri konulmuştur. Her seride dördüncü akvaryum kontrol olarak kullanılmıştır. Deneyler üç tekrarlı olarak yürütülmüş ve her tekrarda iki balık kullanılmıştır.

Deney ortamında metallerin derişiminin zamana bağlı değişimler olabileceği için deney boyunca akvaryum suları ve metallerin derişimleri iki günde bir değiştirilmiştir. Kullanılan kalsiyum CaCl olmuş, Alüminyum ise AlCl₃6H₂O (Merck) olmuş, deney boyunca çözeltiler deiyonize su ile taze hazırlanmıştır. Bu hazırlanan çözeltiden uygun derişimler uygun sulandırma ile akvaryumlara uygulanmıştır.

Her deney süresi bitiminde akvaryumdan kepçe ile alınan balıklar önce çeşme suyu ile iyice yıkanmış ve kurutma kağıdı

ile yüzeylerinde bulunan su damlacıkları alınmıştır. Daha sonra balıkların kas, solungaç ve karaciğer dokularının diseksiyonu yapılmıştır. Doku ve organlar etüvide 150°C'de 48 saat süreyle kurumaya bırakılmıştır. Kuru ağırlıkları belirlenen doku ve organlar deney tüplerine aktararak üzerlerine 2 mL. nitrik asit (Merck, % 65, Ö. A. : 1.40) ve 1 mL. perklorik asit (Merck, % 60, Ö. A. :1.53) eklenmiş (Muramoto, 1983) ve çeker ocakta 120°C'de 3 saat süreyle yakılmıştır. Yakımı tamamlanan örnekler polietilen tüplere aktarılmış ve üzerleri deiyonize su ile 5 mL.'ye tamamlanarak alüminyum analizine hazır hale getirilmiştir. Doku ve organlardaki Alüminyum analizleri Perkin Elmer ICP-MS ile saptanmıştır.

Deneylerden elde edilen verilerin istatistik analizleri "Regresyon analizi" ve "Student-Newman Keul's Test (SNK)" testleri uygulanarak yapılacaktır (Rohlf ve Sokal, 1969; Sokal ve Rohlf, 1969).

BULGULAR

Tüm sürelerde (7, 14 ve 21. gün) 0.1 ve 1.0 mg lt⁻¹ alüminyum ortam derişimlerinin çalışılan tüm dokularda alüminyum birikimi istatistiksel olarak ayırım göstermiştir (P<0.01). Alüminyum birikimi en fazla böbrek dokusunda gerçekleşmiş, bunu solungaç, karaciğer ve kas dokusu izlemiştir.

Denenen tüm sürelerde alüminyum+kalsiyum karışımına bırakılan balıkların dokularındaki alüminyum birikiminin, doğrudan alüminyum etkisine bırakılan balıklara oranla düşük olduğu saptanmıştır (Tablo 1-3; SNK; P<0.01).

7. günde *O. niloticus* doku ve organlarındaki alüminyum düzeylerini kalsiyum önemli derecede alüminyum birikimini azalmıştır. Kalsiyum etkisinde azalmalar alüminyumun yalnız etkisine göre karşılaştırıldığında 0.1 mg lt⁻¹ Al etkisinde en fazla sırasıyla solungaç, karaciğer, böbrek ve kas dokusunda (%69, %51, %28 ve %18) olmuştur. 1.0 mg lt⁻¹ Al etkisinde en fazla karaciğer dokusu, bunu böbrek, solungaç ve kas dokusunda (%51, %49, %39 ve %13) olmuştur (Tablo 1).

O. niloticus balıklarının 14. günde alüminyum ve Al+Ca karışımlarının doku ve organlarda birikimi Tablo 2'de gösterilmiştir. Bu süre sonunda etkide kalınan alüminyum derişiminin yalnız etkisi ile karşılaştırıldığında alüminyum+kalsiyum karışımında önemli bir azalma olduğu gözlenmiştir. Bu azalma 0.1 mg/L alüminyum ortam derişimi etkisine göre Al+Ca karışımında en fazla karaciğer dokusunda (yaklaşık 2 kat), bunu böbrek, solungaç ve kas dokuları (yaklaşık %27, %22 ve %6) izlemiştir. 1.0 mg lt⁻¹ alüminyum ortam derişimi etkisinde ise böbrek ve solungaç dokusunda azalma %82 ve %65 kadar olmuştur (Tablo 2).

O. niloticus 21. günde doku ve organlarındaki alüminyum düzeyleri her iki alüminyum ortam derişimleri ve bunların kalsiyumlu karışımları etkisindeki balıkların dokularında alüminyum birikimi istatistiksel olarak anlamlıdır. Kalsiyum etkisinde önemli derecede alüminyum birikimi azalmıştır. Kalsiyum etkisinde azalmalar alüminyumun yalnız etkisine

göre karşılaştırıldığında 0.1 mg lt⁻¹ Al etkisinde en fazla fazla solungaç dokusu, bunu karaciğer, böbrek ve kas dokusunda (%59, %41, %23 ve %14) izlemiştir (Tablo 3). solungaç dokusu, bunu karaciğer, böbrek ve kas dokusu (%76, %61, %37 ve %33) izlemiştir. 1.0 mg lt⁻¹ Al etkisinde en

Tablo 1. *O. niloticus* doku ve organlarda alüminyum ve alüminyum+kalsiyum karışımının etkisinde 7. günde alüminyum birikimi (µg Al/g. k.a.).

Derişimler (mg/L)	Kas		Karaciğer		Solungaç		Böbrek	
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*
0.0	2.33±0.05	ax	1.16±0.01	bx	4.80±0.35	cx	29.44±0.43	dx
0.1 Al	1.64±0.02	ay	4.76±0.06	by	6.39±0.08	cy	77.85±0.44	dy
0.1 Al+0.1 Ca	1.48±0.01	ayz	4.16±0.01	bx	6.44±0.29	cy	76.83±0.41	dy
0.1 Al+1.0 Ca	1.38±0.01	az	3.14±0.14	bt	3.78±0.10	bz	60.00±0.50	cz
0.0	3.20±0.05	ax	1.30±0.01	bx	4.69±0.04	cx	31.10±0.63	dx
1.0 Al	3.60±0.14	ay	4.70±0.93	by	6.81±0.04	cy	85.70±0.29	dy
1.0 Al+1.0 Ca	3.43±0.08	axy	3.70±0.10	az	6.38±0.28	by	61.03±0.57	cz
1.0 Al+10.0 Ca	3.13±0.03	ax	3.10±0.01	at	4.87±0.35	bx	57.57±0.29	ct

*: a, b, c ve d harfleri organlar arası ayrımı belirlemek; x, y, z ve t harfleri derişimleri belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P<0,01). $\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata.

Tablo 2. *O. niloticus* doku ve organlarda alüminyum ve alüminyum+kalsiyum karışımının etkisinde 14. günde alüminyum birikimi (µg Al/g. k.a.).

Derişimler (mg/L)	Kas		Karaciğer		Solungaç		Böbrek	
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*
0.0	2.39±0.01	ax	1.39±0.01	bx	4.73±0.33	cx	29.33±0.28	dx
0.1 Al	1.92±0.03	ay	3.43±0.11	by	5.17±0.46	cy	89.37±0.31	dy
0.1 Al+0.1 Ca	1.61±0.04	az	1.50±0.17	bx	4.84±0.10	cx	80.64±0.29	dz
0.1 Al+1.0 Ca	1.21±0.01	az	1.25±0.03	ax	4.21±0.52	bz	78.17±0.54	ct
0.0	3.23±0.03	ax	1.40±0.01	bx	4.69±0.05	cx	30.33±0.33	dx
1.0 Al	3.97±0.01	ay	3.73±0.17	ay	7.42±0.37	by	91.78±0.26	cy
1.0 Al+1.0 Ca	3.65±0.02	az	1.91±0.01	bz	5.60±0.12	cz	68.24±0.07	dz
1.0 Al+10.0 Ca	3.26±0.09	at	1.52±0.02	bt	4.48±0.07	cx	50.88±0.46	dt

*: a, b, c ve d harfleri organlar arası ayrımı belirlemek; x, y, z ve t harfleri derişimleri belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P<0,01). $\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata.

Tablo 3. *O. niloticus* doku ve organlarda alüminyum ve alüminyum+kalsiyum karışımının etkisinde 21. günde alüminyum birikimi (µg Al/g. k.a.).

Derişimler (mg/L)	Kas		Karaciğer		Solungaç		Böbrek	
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*
0.0	2.33±0.02	ax	1.44±0.01	bx	4.80±0.01	cx	28.66±0.33	dx
0.1 Al	2.69±0.16	ay	1.96±0.03	by	5.89±0.14	cy	62.31±0.72	dy
0.1 Al+0.1 Ca	2.23±0.01	ax	1.69±0.01	bx	4.57±0.13	cx	55.33±0.61	dz
0.1 Al+1.0 Ca	2.01±0.02	az	1.21±0.02	bz	3.33±0.12	cz	45.33±0.33	dt
0.0	3.31±0.01	ax	1.43±0.01	bx	4.80±0.01	cx	32.23±0.03	dx
1.0 Al	4.71±0.07	ay	2.59±0.03	by	8.59±0.28	cy	95.73±0.36	dy
1.0 Al+1.0 Ca	4.03±0.02	az	1.93±0.01	bz	7.59±0.04	cz	88.16±0.03	dz
1.0 Al+10.0 Ca	4.10±0.02	az	1.83±0.03	bt	5.37±0.09	ct	77.35±0.17	dt

*: a, b, c ve d harfleri organlar arası ayrımı belirlemek; x, y, z ve t harfleri derişimleri belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P<0,01). $\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu araştırmada alüminyum ve alüminyum-kalsiyum karışımının belirlenen derişimlerinin 21 gün süreyle etkisi sonunda balıklarda mortalite gözlenmemiştir. Bu da seçilen alüminyum ve kalsiyum derişimlerin *O. niloticus* türü için öldürücü olmadığını gösterir. Yine belirlenen süre ve ortam derişimlerinin etkisinde doku ve organlarda yüksek derişimlerde metal birikiminin meydana gelmesine karşın mortalitenin gözlenmemesi balıkta var olan homeostatik denge mekanizmalarının iyi çalıştığının bir göstergesidir (Thomas vd., 1985; Tort vd., 1987).

Ortamda bir stres etkeninin bulunması balıkları çok hızlı etkilemektedir. Herhangi bir stres yemlere ilgisizliğe, akvaryumlarda bir tarafa toplanarak ve hareketlerinde bir azalma olarak kendini gösterir (Buckley vd., 1982; McGeer vd., 2000). Araştırmamızda deney süresince alüminyum ve kalsiyum ortam derişimlerinin etkisinde bulunan balıkların kontrol balıklarına oranla hareketsiz oldukları ve verilen yemleri almadıkları gözlenmiştir.

Alüminyum sucul ortamlarda ciddi ekolojik problemlerle toksisiteye neden olan zararlı bir metal olup şu ana kadar bilinen bu metalin normal fizyolojik fonksiyonları yoktur

(Nayak, 2002). Fizyolojik değişiklikler farklı balık türlerinde alüminyumun kardiyovasküler olarak ilgisi (Laitinen ve Voltonen, 1995), hematolojik (Barcoroli ve Martinez, 2004), solunum, iyon düzenleme, üreme (Vuorinen vd., 2003), metabolik (Brodeur vd., 2001) ve endokrin (Waring vd., 1996) rahatsızlıkları solungaç yapısal hasarlarla (Peuranen vd., 1993) ilgilidir. Alüminyum tatlı su balıklarında akut iyon regülasyonu solunum rahatsızlıklarına hatta solungaçlarda Al^{+3} olarak depolanmasına sebep olur (Poleo, 1995). Yapılan bazı araştırmalarda alüminyum alımı anemiye neden olmakta, kemik hasarları bırakmakta, bebeklerin erken doğumlarında beyin hasarlarına, böbrek fonksiyonlarını bozmaktadır (Sedman vd., 1985; D'Arcy, 1985; McGraw vd., 1986). Alüminyum özellikle asitli sularda temel bir toksikandır (Dickson, 1978).

Çalışmamızda alüminyum birikimi en fazla böbrek dokusunda gerçekleşmiş, bunu solungaç, karaciğer ve kas dokusu izlemiştir. Çalışılan tüm doku ve organlarda kalsiyum alüminyum birikimini azaltma eğilimi göstermiş ve koruyucu etki yapmıştır. Kalsiyum denenen tüm sürelerde alüminyum birikiminin azaltılmasında en fazla solungaç dokusunda, bunu karaciğer, böbrek ve kas dokusu izleyen etki yapmıştır.

Yapılan birçok araştırmada su ortamında bir metalin varlığında balıkta kalsiyumun etki mekanizmaları 1) Çözülebilir metalin sert sularda özelliğinin değişmesine, 2) sert sularda solungaç geçirgenliğinin azalmasına ve dolayısıyla metal alınımının azalmasına ve 3) Sert sularda klor hücrelerinin artış sonucu metal atılımının artmasına bağlı olabileceğini belirtmişlerdir (Pascoe vd., 1986; Baldisserotto vd., 2004). Araştırmacılar çeşitli omurgalı ve omurgasız hayvanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarda kalsiyum ve magnezyumun metal birikimini azalttığını saptamışlardır (Gagnon vd., 1998; Comhaire vd., 1994; Barron ve Albeke, 2000; Hollis vd., 2000; Baldisserotto vd., 2004). Yapılan bir araştırmada metalin alınımının ve atılımının suyun sertliği ile ilişkili olduğunu ve balıkların metalleri sert suda daha fazla atabildiklerini veya daha azaldıklarını saptamıştır (Pascoe vd., 1986).

Balıkların metalleri alınımı ve eliminasyonu ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır (Allen, 1994; Regoli ve Orlando, 1994; Suresh vd., 1995; Riget vd., 1997; Baden vd., 1999). Bu araştırmaların birçoğunda metal toksisitesini azaltmada kullanılan şelatlaştırıcı maddelerle ilgili araştırmalardır (Friedhein vd., 1978; Graziano vd., 1985; Klavassen, 1985). Özellikle metal toksisitesinin azalmasında EDTA, NTA, sitrat gibi maddeler veya zeolit gibi madenlerde seçilmektedir (Simon, 1981; James vd., 1998; Cogun ve Şahin, 2012). Balıklarda ortamda kalsiyum bulunması durumunda doku ve organlarda çinko (Hardy ve Shearer, 1985; Barron ve Albeke, 2000), bakır (Wurtz ve Perschbacher, 1994), kobalt (Comhaire vd., 1994) ve alüminyum (Glynn vd., 1992) gibi metallerin de düzeylerinin azaldığı belirtilmiştir. Kadmiyumun etkisine bırakılan *O. mykiss*'de sudaki yüksek kalsiyum derişimleri, solungaç, karaciğer ve böbreklerde kadmiyum birikimini azalttığı ve dokularda kadmiyum birikimine karşı kalsiyumun

engelleme etkisi yaptığı belirtilmiştir (Hollis vd., 2000).

Balıklarda metal birikimi, doku ve organlar arasında ayrım göstermekle birlikte genellikle metabolik bakımdan aktif doku ve organlarda yüksek derişimlerde meydana gelmektedir (Amiard vd., 1987). Metal birikimi bakımından doku ve organlar arasında saptanan bu ayrım, doku ve organların işlevlerindeki farklılıkla açıklanabilir (Cicik ve Erdem, 1992; Melgar vd., 1997).

Solungaçlar, bir balığın saatte yaklaşık 48 litre suyun geçtiği önemli bir organdır. Bu nedenle balık solungaçları dış ortamdaki metaller için toksikolojide ilk hedef dokudur ve metalin vücuda girişinde önemli bir yer olduğu belirtilmiştir (Pelgrom vd., 1995; Tao vd., 1999). Alüminyum tatlı su balıklarında akut iyon regülasyonu, solunum rahatsızlıkları ve solungaçlarda Al^{+3} olarak depolanmasına sebep olur (Poleo, 1995). Alüminyum balık solungaç fonksiyonlarını etkilediğinde mukus salgısının artmasına ve solunumu etkiler (Neville, 1985; Mc. Donald vd., 1989; Howells vd., 1994). Bu araştırmada *O. niloticus*'da böbrekten sonra en yüksek Al birikimi solungaçlarda olmuştur. Bu büyük bir olasılıkla solungaçların geniş bir yüzey alanına sahip olması ve solungaçları kaplayan mukusun metalleri tutmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca alüminyumun solungaç dokusunda yüksek derişimde birikimi de, kontaminasyon sonucunda solungaç dokusunda meydana gelen mukus salgınımı ve yapısal bozuklukla açıklanabilir (Pratap ve Bonga, 1993).

Yaptığımız çalışmada alüminyum derişimleri etkide kalınan süreye bağlı olarak balığın solungaçlarında arttığı saptanmıştır. Al+Ca etkisinde *O. niloticus* solungaçlarında Al birikimi en fazla azalma 21. günde yaklaşık %76 kadardır. Solungaç dokusunda alüminyum birikimi (I) fazla miktarda mukus oluşumu (Muniz ve Leivestad, 1980), (II) Alüminyum birçok katyonla (Ca, Mg, Na ve H) solungaç yüzeylerine bağlanmada rekabet etmesi (Exley vd., 1991), (III) kalsiyumun su ortamını sert hale getirerek metallerin çökmesine sebep olması ile sudaki Al konsantrasyonunu azaltması (Dietrich ve Schlatter, 1989) ile dokularda Al birikimini azaltmıştır.

Balıklarda böbrekler metallerin atılımını sağlayan önemli bir organdır. Yaptığımız çalışmada en fazla alüminyum birikimi dokular arasında böbrekler olduğu saptanmıştır. Al+Ca karışımında ise yalnız Al etkisindeki balıklara göre Al birikiminde bir azalma olmuştur. En fazla azalma 14. günde yaklaşık %82 kadar olmuştur. Bu azalma sudaki Al düzeylerinin kalsiyum tarafından azaltılması sayesinde olmaktadır. Ancak tüm doku ve organlar karşılaştırıldığında bu azalma çok fazla olmamıştır. Bunun sebebi metal bağlayıcı proteinlerin sentezinin yapımı yerinin böbrekler olmasından (Schulz-Baides, 1974; Thomas vd., 1985; Wood, 1988) dolayı olabilir.

Karaciğer metal biriktirmede çok önemli indikatör bir organdır. Balıklarda karaciğer, metallerin depolanmasında ve detoksifikasyonunda görev yapan önemli bir organdır (Ali vd., 2003). *O. niloticus* ile yapılan bu çalışmada karaciğerin

alüminyum birikiminde böbrek ve solungaçtan sonra geldiği saptanmıştır. Karaciğer ağır metallerin en fazla biriktiği bir organdır (Olsson ve Haux, 1986; Hollis vd., 2001; Cogun ve Kargın, 2004). Balıklarda karaciğer metallothionein gibi detoksifikasyon proteinlerinin başlıca sentezlendiği yerdir (Olsson ve Haux, 1986; Cinier vd., 1999). Araştırmamızda *O. niloticus*'da alüminyumun karaciğerde birikmesi, alüminyum depolanma ve detoksifikasyon mekanizmasının etkin bir şekilde işlediğini göstermektedir. Karaciğerde alüminyum birikiminin Al+Ca karışımında önemli düzeyde azaldığı saptanmıştır. Bu azalma en fazla 14. günde kontrol balıklarına göre yaklaşık 2 kat kadardır. Azalmanın sebebi kalsiyumun su ortamında su sertliğini yükseltmesi ve sert sularda alüminyum gibi metallerin daha az aktif olmasıyla balık tarafından birikiminde az olmasına neden olmaktadır. Bazen ise metalin varlığı karaciğerde metallothionein sentezini teşvik ettiği saptanmıştır (Reichert vd., 1979).

Balıklarda kaslar, metal biriktirmede metabolik olarak aktif bir doku değildirler. Tatlı su balıklarıyla yapılan araştırmalarda kas dokusunun alüminyum diğer dokulara oranla düşük

düzye biriktirdiği saptanmıştır (Tulasi vd., 1992; Kargın, 1998). Çalışmamızda da alüminyum birikimi kas dokusunda diğer doku ve organlara göre az olmuştur. Kalsiyum varlığında ise bir azalma saptanmıştır. Kalsiyum varlığında alüminyum birikiminde en fazla azalma 21. günde yaklaşık %14 oranında olduğu saptanmıştır.

Elde edilen sonuçlar göstermiştir ki; kalsiyum, *O. niloticus*'u alüminyum toksisitesine karşı korumuştur. Alüminyum birikimi etkide kalınan süreye ve ortam derişimine bağlı olarak artma gösterirken, alüminyum+kalsiyum karışımında alüminyum birikimi *O. niloticus* doku ve organlarında önemli düzeyde azalmıştır. Bu azalmanın kalsiyumun su ortamının sertliğini arttırması ile ortamdaki alüminyum derişimini azaltarak dokularda birikimini azaltması şeklinde olduğu düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma 2012/LTP/002 no'lu proje kapsamında Kilis 7 Aralık Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna ve proje ekibine teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Ali, B.A., Al-Ogaily, S. M., Al-Asgah, N.A., Gropp, J. 2003. Effect of sublethal concentrations of copper on the growth performance of *Oreochromis niloticus*. *Journal of Applied Ichthyology*, 19:183-188. doi:10.1046/j.1439-0426.2003.00440.x
- Allen, P. 1994. Mercury accumulation profiles and their modification by interaction with cadmium and lead in the soft tissues of the cichlid *Oreochromis aureus* during chronic exposure. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 53:684-692. doi:10.1007/BF00196940
- Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., Berthet, B., Métyer, C. 1987. Comparative study of the patterns of bioaccumulation of essential (Cu, Zn) and non-essential (Cd, Pb) trace metals in various estuarine and coastal organisms. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 106:73-89. doi:10.1016/0022-0981(87)90148-1
- Baden, S.P., Eriksson, S.P., Gerhardt, L. 1999. Accumulation and elimination kinetics of manganese from different tissues of the Norway Lobster *Nephrops norvegicus* (L.). *Aquatic Toxicology*, 46:127-137. doi:10.1016/S0166-445X(98)00123-4
- Baldissarro, B., Kamunde, C., Matsuo, A., Wood, C.M. 2004. Acute waterborne cadmium uptake in rainbow trout is reduced by dietary calcium carbonate. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 137:363-372.
- Barcarolli, I.F., Martinez, C.B.R. 2004. Effects of aluminium in acidic water on hematological and physiological parameters of the neotropical fish *Leporinus macrocephalus* (Anostomidae). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 72:639-646. doi:10.1007/s00128-004-0291-6
- Barron, M.G., Albeke, S. 2000. Calcium control of zinc uptake in rainbow trout. *Aquatic Toxicology*, 50:257-264. doi:10.1016/S0166-445X(99)00099-5
- Berntssen, M.H.G., Waagbo, R., Toften, H., Lundebye, A.K. 2003. Effects of dietary cadmium on calcium homeostasis, Ca mobilization and bone deformities in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). *Parr. Aquaculture Nutrition*, 9:175-183. doi:10.1046/j.1365-2095.2003.00245.x
- Brodeur, J.C., Okland, F., Finstand, B., Dixon, D.G., Mc Kinley, R.S. 2001. Effects of subchronic exposure to aluminum in acidic water on bioenergetics of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49:226-234. doi:10.1006/eesa.2001.2054
- Buckley, J.T., Roch, M., McCarter, J.A., Rendell, C.A. and Matheson, A.T. 1982. Chronic exposure of coho salmon to sublethal concentrations of copper-I. Effect on growth, on accumulation and distribution on of copper and on copper tolerance. *Comparative Biochemistry and Physiology* 72C, 1:15-19.
- Cinier, C.C., Ramel, M.P., Faure, R., Garin, D., Bouvet, Y. 1999. Kinetics of cadmium accumulation and elimination in carp *Cyprinus carpio* tissues. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 122:345-352.
- Cicik, B., Erdem, C. 1992. *Tilapia nilotica*'da bakırın karaciğer ve kas dokularındaki nicel protein derişimlerine etkileri. *Biyokimya Dergisi*, XVII:51-64.
- Cogun, H.Y., Kargın, F. 2004. Effects of pH on the mortality and accumulation of copper in tissues of *Oreochromis niloticus*. *Chemosphere*, 55:277-282. doi:10.1016/j.chemosphere.2003.10.007
- Cogun, H.Y., Şahin, M. 2012. Nil *Tilapia (Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758)'da kurşun toksisitesinin azaltılmasında zeolitin etkisi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18(1):135-140.
- Comhaire, S., Blust, R., Ginneken, L.V., Vanderborght, O.L.J. 1994. Cobalt uptake across the gills of the common carp, *Cyprinus carpio*, as a function of the calcium concentration in the water of acclimation and exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology* 109 C, 1:63-76.
- D'Arcy, P.F. 1985. Aluminium toxicity and the premature infant. *Pharmaceutical International*, 6:190-191.
- Dickson, W. 1978. Some effects of the acidification of Swedish lakes. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie*, 20:851-856.
- Dietrich, D., Schlatter, C. 1989. Aluminium toxicity to rainbow trout at low pH. *Aquatic Toxicology*, 15:197-212. doi:10.1016/0166-445X(89)90036-2
- Exley, C., Chappell, J.S., Birchall, J.D. 1991. A mechanism for acute aluminum toxicity in fish. *The Journal of Theoretical Biology*, 151:418-428. doi:10.1016/S0022-5193(05)80389-3

- Friedhein, E., Graziano, J.H., Popovac, D., Dragaric, D., Kaul, B. 1978. Treatment of lead poisoning by 2,3-dimercaptosuccinic acid. *Lancet*, 2:1234-1236. doi:10.1016/S0140-6736(78)92103-7
- Gagnon C., Vaillancourt, G., Pazdernik, L. 1998. Influence of water hardness on accumulation and elimination of cadmium in two aquatic mosses under laboratory conditions. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 34(1):12-20. doi:10.1007/s002449900280
- Galvez, F., Webb, N., Hogstrand, C., Wood, C.M. 1998. Zinc binding to the gills of rainbow trout: the Effect of long term exposure to sublethal zinc. *The Journal of Fish Biology*, 52:1089-1104. doi:10.1111/j.1095-8649.1998.tb00957.x
- Glynn, A., Norrgren, L., Malmborg, O. 1992. The influence of calcium and humic substances on aluminium accumulation and toxicity in the minnow, *Phoxinus phoxinus* at low pH. *Comparative Biochemistry and Physiology* 102C, 3:427-432.
- Graziano, J.H., Siris, E.S., Lolocono, N., Silverberg, S.J., Turgeon, L. 1985. 2,3-Dimercaptosuccinic acid as an antidote for lead intoxication. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 37:431-438. doi:10.1038/clpt.1985.67
- Hardy, R.W., Ve Shearer, K.D. 1985. Effects of dietary calcium phosphate and zinc supplementation on whole body zinc concentration of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 42:181-184. doi:10.1139/f85-022
- Heath, A.G., 1987. Water pollution and fish physiology. CRC Pres. 24 pp. Florida USA.
- Hongstrand, C., Reid, S.D., Wood, C.M. 1995. Ca²⁺ versus Zn²⁺ Transport in the gills of fresh water rainbow trout and the cost of adaptation to waterborne Zn²⁺. *The Journal of Experimental Biology*, 198:337-348.
- Hongstrand, C., Webb, N., Wood, C.M. 1998. Covariation in in hard and soft water. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 45:2206-2215.
- Hollis, L., Mc Geer, J.C., Mcdonald, D.G., Wood, C.M. 2000. Effects of long term sublethal Cd exposure in rainbow trout during soft water exposure: implications for biotic ligand modelling. *Aquatic Toxicology*, 51:93-105. doi:10.1016/S0166-445X(00)00099-0
- Hollis, L., Hogstrand, C., Wood, C. M. 2001. Tissue-specific cadmium accumulation, metallothionein induction, and tissue zinc and copper levels during chronic sublethal Cd exposure in juvenil rainbow trout. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 41:468-474. doi:10.1007/s002440010273
- Howells, G., Dalziel, T.R.K., Reader, J.P., Solbe, J.F. 1994. Aluminum and fresh waterfish water quality criteria. Howells, G. (Ed) Water quality for freshwater fish. Gordon and Breach Science Publication, pp. 55-115.
- Hunn, J.B. 1985. Role of calcium in gill function in freshwater fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology* 82A, 543-547. doi:10.1016/0300-9629(85)90430-X
- James, R., Sampath, K., Selvamani, P. 1998. Effect of EDTA on reduction of copper toxicity in *Oreochromis mossambicus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 60:487-493. doi:10.1007/s001289900651
- Kargin, F. 1998. Metal concentrations in tissues of the freshwater fish *Capoeta barroisi* from the Seyhan River (Turkey). *Water Air and Soil Pollution*, 60(5):822-828.
- Koivistoinen, P. 1980. Mineral element composition of Finnish foods: N, K, Ca, Mg, P, S, Fe, Cu, Mn, Zn, Mo, Co, Ni, Cr, F, Se, Si, Rb, Al, B, Br, Hg, As, Cd, Pb and ash. *Acta Argiculture Scandinavica*, 22:171-175.
- Klavassen, C.D. 1985. Heavy metals and heavy metals antagonist. Gilman, A.G., Goddman, L.S., Rail, T.W., Murad, F. (Eds). The Pharmacological basis of Therapeutics. pp. 1605-1627, Mc Millan, New York, USA.
- Laitinen, M., Voltonen, T. 1995. Cardiovascular, ventilatory and haematological responses of brown trout (*Salmo trutta* L.) to the combined effects of acidity and aluminium in humic water at winter temperatures. *Aquatic Toxicology*, 31:99-112. doi:10.1016/0166-445X(94)00060-4
- Mc Donald, D.G., Tang, Y., Boutilier, R.G. 1989. Acid and ion transfer across the gills of fish: mechanisms and regulation. *Canadian Journal of Zoology*, 67:3046-3054. doi:10.1139/z89-428
- McGeer, J.C., Szebedinszky, C., Mc Donald, D.G., Wood, C.M., Muramoto, S. 2000. Elimination of copper from Cu-contaminated fish by long-term exposure to EDTA and freshwater. *Journal of Environmental Science and Health*, A18(3):455-461.
- Mc Graw, M., Bishop, N., Jameson, R., Robinson, M.J., O'Hara, M., Hewitt, C.D., Day, J.P. 1986. Aluminum content of milk formulae and intravenous fluids used in infants. *Lancet*, i:157. doi:10.1016/S0140-6736(86)92293-2
- Melgar, M.J., Perez, M., Garcia, M.A., Alonso, J., Miquez, B. 1997. The toxic and accumulative effects of short term exposure to cadmium in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Veterinary & Human Toxicology*, 39:79-83.
- Muniz, I. P., Leivestad, H. 1980. Toxic effects of aluminium on the brown trout, *Salmo trutta* L. In: Drablns. D., Tollan, A. (eds.) Proc. Int. Conf Ecol. Impact Acid Precip.. Sande-fjord, Norway, SNSF project, Oslo-As, p. 320-321.
- 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(3):455-461. doi:10.1080/10934528309375113
- Nayak, P., 2002. Aluminium impacts and disease. *Environmental Research* 89A, 101-115. doi:10.1006/enrs.2002.4352
- Neville, C.M. 1985. Physiological response of juvenile rainbow trout, *Salmo gairdneri*, to acid and aluminum-prediction of field responses from laboratory data. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 42:2004-2019. doi:10.1139/f85-248
- Olsson, P.E., Haux, C. 1986. Increased hepatic metallothionein content correlate to cadmium accumulation in environmentally exposed Perch (*Perca fluviatilis*). *Aquatic Toxicology*, 9:231-242. doi:10.1016/0166-445X(86)90011-1
- Pascoe, D., Evans, S.A., Woodworth, J., 1986. Heavy metal toxicity to fish and influences of water hardness. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 15:481-487. doi:10.1007/BF01056559
- Pelgrom, S.M.G.J., Lock, R.A.C., Balm, P.H.M., Wendelaar Bonga, S.E. 1995. Integrated physiological response of tilapia, *Oreochromis mossambicus*, to sublethal copper exposure. *Aquatic Toxicology*, 32:303-320. doi:10.1016/0166-445X(95)00004-N
- Peuranen, S., Vuorinen, P.J., Vuorinen, M., Tuurala, H. 1993. Effects of acidity and aluminium on fish gills in laboratory experiments and in the field. *The Science of the Total Environment*, 134(S2):953-967.
- Pratap, H.B., Wendelaar Bonga, S.E. 1993. Effects of ambient and dietary cadmium on pavement cells, chloride cells and Na⁺-ATPase of the fresh water teleost *Oreochromis mossambicus* at normal and high calcium levels in the ambient water. *Aquatic Toxicology*, 26:133-150. doi:10.1016/0166-445X(93)90010-X
- Poleo, A.B.S. 1995. Aluminium polymerization – a mechanism of acute toxicity of aqueous aluminium to fish. *Aquatic Toxicology*, 31:347-356. doi:10.1016/0166-445X(94)00083-3
- Regoli, F., Orlando, E. 1994. Seasonal variation of trace metal concentrations in the digestive gland of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*: Comparison between a polluted and a non-polluted site. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 27:36-43. doi:10.1007/BF00203885
- Reichert, W.L., Federigh, D.A., Malins, D.C. 1979. Uptake and metabolism of lead and cadmium in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 63C:229-234.
- Riget, F., Dietz, R., Johansen, P. 1997. Zinc, cadmium, mercury and selenium in Greenland fish. *Meddelelser om Grønland Bioscience*, 48:1-29.
- Rohlf, J.F., Sokal, R.R. 1969. Statistical Tables. W. H. Freeman and Company, San Francisco. 253 pp.

- Romeo, M., Bennani, N., Gnassia-Barelli, M., Lafaurie, M., Girard, J.P. 2000. Cadmium and copper display different responses towards oxidative stress in the kidney of the sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquatic Toxicology*, 48:185-194. doi:[10.1016/S0166-445X\(99\)00039-9](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(99)00039-9)
- Schulz - Baides, M. 1974. Lead uptake from the sea water and food, and lead loss in the common Mussel *Mytilus edulis*. *Marine Biology*, 25:177-193. doi:[10.1007/BF00394964](https://doi.org/10.1007/BF00394964)
- Sedman, A., Bozynski, M., Karra, M., Chan, J. 1985. Risk factors for aluminum (Al) toxicity in childhood. *The International Pediatric Nephrology*, 3C:134.
- Simon, C.M. 1981. Design and operations of a large scale commercial penaeid shrimp hatchery. *Journal of the World Mariculture Society*, 12:322-334. doi:[10.1111/j.1749-7345.1981.tb00305.x](https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1981.tb00305.x)
- Sokal, R.R., Rohlf, J.F. 1969. "Biometry" W. H. And Freeman and Company, San Francisco. 776 pp.
- Spry, D.J., Wood, C.M. 1998. Zinc influx across the isolated, perfused head preparation of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in hard and soft water. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 45:2206-2215. doi:[10.1139/f88-257](https://doi.org/10.1139/f88-257)
- Suresh, A., Sivaramakrishna, B., Radhakrishnaiah, K. 1995. Cadmium induced changes in ion levels and ATPase activities in the muscle of the fry and fingerlings of the freshwater fish, *Cyprinus carpio*. *Chemosphere*, 30(2):365-375. doi:[10.1016/0045-6535\(94\)00403-H](https://doi.org/10.1016/0045-6535(94)00403-H)
- Tao, S., Liu, C., Dawson, R., Cao, J., Li, B. 1999. Uptake of particulate lead via the gills of fish (*Carassius auratus*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 37:352-357. doi:[10.1007/s002449900524](https://doi.org/10.1007/s002449900524)
- Thomas, D.G., Brown, M.W., Shurben, D., Solbe, J.F.D.G., Cryer, A., Kay, J. 1985. 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. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 82:55-62.
- Tort, L., Torres, P., Flos, R. 1987. Effects on dogfish haematology and liver composition after acute copper exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 87C(2):349-353.
- Tulasi, S.J., Reddy, P.U., Rao, J.V.R. 1992. Accumulation of lead and effects on total lipids and lipid derivatives in the freshwater fish *Anabas testudines*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 23:33-38. doi:[10.1016/0147-6513\(92\)90019-Y](https://doi.org/10.1016/0147-6513(92)90019-Y)
- Viarengo, A. 1985. Biochemical effects of trace metals. *Marine Pollution Bulletin*, 16(4):153-158. doi:[10.1016/0025-326X\(85\)90006-2](https://doi.org/10.1016/0025-326X(85)90006-2)
- Vuorinen, P.J., Keinänen, M., Peuranen, S., Tigerstedt, C. 2003. Reproduction, blood and plasma parameters and gill histology of vendace (*Coregonus albula* L.) in long-term exposure to acidity and aluminum. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54(3):255-276. doi:[10.1016/S0147-6513\(02\)00078-7](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00078-7)
- Waring, C.P. Brown, I.A. Collins, J.E., Prunet, P. 1996. Plasma prolactin, cortisol, and thyroid responses of the brown trout (*Salmo trutta*) exposed to lethal and sublethal aluminum in acidic soft waters. *General and Comparative Endocrinology*, 102:377-385. doi:[10.1006/gcen.1996.0081](https://doi.org/10.1006/gcen.1996.0081)
- Wood, C.M. 1988. Acid-base and ionic exchanges at gills and kidney after exhaustive exercises in the rainbow trout. *The Journal of Experimental Biology*, 136:461-481.
- Wood, C.M. 2001. Toxic responses of the gill. Schlenk, D., Benson, W.H. (Eds), Target organ toxicity in marine and freshwater teleost. Taylor and Francis, London, pp. 1-87.
- Wurtz, W.A., Perschbacher, P.W., 1994. Effects of bicarbonate alkalinity and calcium on the acute toxicity of copper to juvenile channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 125:73-79. doi:[10.1016/0044-8486\(94\)90284-4](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90284-4)