

Kahverengi Alabalıklarda (*Salmo trutta fario*) kadmiyum toksisitesine karşı humik asit etkisinin hematolojik parametrelerle araştırılması

Investigation of humic acid effects versus cadmium toxicity on hematological parameters of Brown Trout (*Salmo trutta fario*)

Gonca Alak^{1*} • Muhammed Atamanalp² • Arzu Uçar² • Harun Arslan² • Tuğçe Şensurat² • Veysel Parlak² • E.Mahmut Kocaman²

¹Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, 25240, Erzurum, Türkiye

²Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, 25240, Erzurum, Türkiye

*Corresponding author: galak@atauni.edu.tr

Abstract: The preservative effect of humic acid versus cadmium toxicity on brown trout was investigated (*Salmo trutta fario* Linnaeus, 1792), in terms of some hematological parameters in this study. Fish had been exposed to cadmium chloride or/and humic acid (2 ppm Cd, 2ppm Cd+5 ppm humic acid and control) for 7 days. At the end of the trial period, change of hematological parameters; hemoglobin, hematocrite, erythrocyte, mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean cell volume (MCV) and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) were observed. Statistical analyses showed that the differences in all values but RBC, hematocrite, platelet counts, MCV and MCH were important at $p < 0.05$.

Keywords: Cadmium, Heavy metal, Humic acid, Brown trout, Hematology

Özet: Bu çalışmada, kahverengi alabalıklarda (*Salmo trutta fario* Linnaeus, 1792) kadmiyum toksisitesine karşı humik asitin koruyucu etkisi bazı hematolojik parametreler açısından araştırılmıştır. Balıklar kadmiyum ve/veya humik asite (2ppm Cd, 2ppm Cd+ 5 ppm humik asit ve kontrol) 7 gün boyunca maruz bırakılmışlardır. Deneme periyodu sonunda hematolojik parametrelerden hemoglobin, hematokrit, eritrosit, eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı (MCH), ortalama eritrosit hacmi (MCV) ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) değerlerinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. İstatistik açıdan tüm parametrelerde gruplar arası fark belirlenmiş olsa da kırmızı kan hücresi (RBC), hematokrit, trombosit sayısı, MCV ve MCH parametreleri $p < 0.05$ seviyesinde önemli bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Kadmiyum, Ağır metal, Humik asit, Kahverengi alabalık, Hematoloji

GİRİŞ

Ağır metallerin sucul ortamlara girişleri; tarımsal ve endüstriyel faaliyetlerden, yağmur ve yüzey suları ile taşınımından ve kirliliği su arıtımı gibi yollarla olmaktadır. Bu metallerin sucul organizmalara geçişleri ise suyun yoğunluğu, sertlik, osmotik basınç, pH, serbest oksijen miktarı gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak birlikte besin zinciri yolu ile de gerçekleşmektedir (Atamanalp vd. 2012).

Ağır metaller konsantrasyonlarına bağlı olarak sucul organizmalarda strese neden olmaktadır. Akuatik ortamlarda, bu stres faktörlerinin oluşturduğu değişimlerin gözlemlenmesinde balıklar yaygın olarak kullanılan biyoindikatörlerdir. Çünkü balık kanı; stres sonucu gelişen sekonder yanıtlarda, çevresel ve insan kaynaklı stres faktörlerinin etkileri ve ekosistem sağlığı adına su ortamındaki kirlenmeler ve bunların balıklar üzerindeki stres düzeyini belirlemede sıkça kullanılır (Kayhan vd. 2009; Atamanalp vd. 2012). Balıklarda hematolojik parametrelerin değişiminde balık türünün yanında; mevsim ve sıcaklığın, üreme dönemi ve beslenme durumunun, balık büyüklüğü ve ağırlığının, yaşın,

ayrıca suyun tuzluluğunun, hastalıkların, toksik maddelerin, ağır metal ve sanayi atıklarının, stres faktörlerinin de etkili olduğu bildirilmiştir (Çelik ve Bircan, 2004).

Kadmiyum, yaygın olarak bulunan ve ağır metallerin içerisinde toksik etki göstermesi bakımından ilk sıralarda yer alan önemli bir metaldir. Kadmiyumun düşük derişimleri, akuatik canlılarda birçok fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerin bozulmasına neden olmaktadır. Fizyolojik parametrelerdeki bozuklukların düzeyi, metalin alınımı ve organizmadaki birikimine bağlı olarak birlikte ortamın fizikokimyasal yapısı ile de değişim göstermektedir (Goss ve Wood, 1988; Katalay ve Parlak, 2004).

Humik asitler; organik maddelerin toprak içerisindeki parçalanma ürünleri olan karbonhidrat, amino asit ve fenoller gibi bazı maddelerin meydana getirdiği humustan köken alan humik, fulvik, ulmik asit, humin ve bazı mikro minerallerden oluşmaktadır (Stevenson, 1994; Ying vd. 2001; Rung vd. 2001). Humat bileşiklerinin, sindirim kanalında optimum pH oluşumunu sağlayarak patojen mikroorganizmaların

çoğalmalarını engellediği, viral partiküllerin hücre yüzeyine yapışmalarını engelleyerek antiviral etki gösterdikleri, kalsiyum ve çeşitli iz minerallerden yararlanmayı artırdığı, yapısında bulunan humik ve fulvik asitler sayesinde kurşun ve civa gibi ağır metallerle patojenik bakterilerin toksinleri arasında şelat oluşturarak detoksifikasyonlarında rol oynadığı bildirilmiştir (Çetin vd. 2006).

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

MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırma Yeri ve Balık Materyali

Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İçsu Balıkları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen 140 ± 15 g ağırlığındaki, öncesinde herhangi bir enfeksiyon yada toksisiteye maruz kalmamış kahverengi alabalıklar (*Salmo trutta fario*) Su Ürünleri Fakültesi toksikoloji araştırma ünitesinde denemeye alınmışlardır. Deneme süresince balıklara ticari alabalık peletleri ile serbest yemleme yapılmıştır.

Su Materyali ve Araştırma Tankları

Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akvaryum Balıkları Yetiştirme ve Araştırma Merkezindeki, mevcut şehir şebekesinden gelen su, aktif karbonlu filtre sistemiyle kloru giderildikten sonra kullanılmıştır (Schmidtke ve Carson, 1999).

Filtre sisteminden geçirilen su, kg balığa 0,5 l/dak'dan az olmamak şartıyla tanklara dağıtılmıştır (Stickney, 1991; Çelikkale, 1994) ve araştırma boyunca su sıcaklığı $11,5 \pm 1,5$ °C olarak ölçülmüştür.

Araştırmada 1 m çap ve 1 m derinliği olan, su tahliyesi eğik boru sistemiyle yapılan fiberglas tanklar kullanılmıştır (Bricknell vd. 1999). Üçü deneme diğeri kontrol olmak üzere 4 tankta 8'er adet balık stoklanmıştır. Deneme süresince balıkların tanktan dışarı sıçramasını önlemek için tankların üzeri ağlarla kapatılmıştır.

Kimyasal Materyali ve Deneme Süresi

Araştırmada Sigma üretimi olan (C-2644) kadmiyum klorit ($CdCl_2$)' in 2 ppm'lik dozu ve humik asitin 5 ppm'lik dozları saf suda çözündürülerek ayrı ayrı ve birlikte olarak (Talas vd. 2008; Wood vd. 2011) *Salmo trutta fario* larda 7 gün boyunca denenmiştir. Kimyasal uygulamasından önce, balıkların yeni ortama aklimasyonları için 14 gün beklenmiştir.

Kan Örneklerinin Alınması ve Hematolojik Analizler

Balıklardan kan örnekleri anestezi uygulamaksızın anal yüzeğin hemen arka kısmından plastik enjektörle kaudal venadan girilerek yaklaşık 3 ml alınmıştır (Atamanalp vd. 2002).

Hemoglobin miktarının tayini

0,02 ml kan örneği ile 5 ml Drabkin solüsyonu (0,198 g $K_3Fe(CN)_6$, 0,052 g KCN, 1 g Na_2CO_3) yavaş hareketlerle alt üst edilerek homojen bir karışım sağlanmış 10 dk. inkübasyon

sonrasında dipteki çökelti bir kürdanla çıkarıp atılarak 540 nm'de transmittans (%T) değeri ölçülmüştür. Elde edilen değere karşılık gelen hemoglobin miktarı standart tablodan bakılarak tespit edilmiş ve g/100 cm^3 olarak yazılmıştır (Blaxhall ve Daisley, 1973; Atamanalp, 2000; Uçar, 2010).

Hematokrit tayini

Kan örnekleri 1,1 mm çaplı, 7 mm uzunluğundaki mikrohematokrit tüplerine alındıktan sonra tüpün bir ucu cam macunıyla kapatılarak hematokrit santrifüjünde 10500 rpm devirde 5 dk çevrildikten sonra bulunan değer skaladan okundu ve toplam kanın %'si olarak kaydedildi (Atamanalp, 2000; Uçar, 2010).

Eritrositlerin çökme hızı

Eritrosit çökme oranının tespitinde antikoagülanlı kan örnekleri 1,1-1,2 mm çapında ve 7 cm uzunluğundaki hematokrit tüplerine alınıp 1 saat süreyle dik pozisyonda (90°) bekletildikten sonra ayrılan serum kısmı milimetrik kağıt yardımıyla ölçülmüştür. Elde edilen sonuç mm/saat cinsinden kaydedilmiştir (Atamanalp, 2000; Uçar, 2010).

Eritrosit sayısının tespiti

Eritrosit pipetiyle 0,5 çizgisine kadar çekilen taze kan, 101 çizgisine kadar Dacie's solüsyonu (%40 formaldehit, 31,3 g trisodyum sitrat ve 1 g brillant cresyl blue) ile tamamlanarak 1/200 oranında sulandırılmıştır. İyice çalkalanan karışım, 1-2 dk. Dacie's solüsyonunda boyanmaya bırakılmış ve homojenize olmamış ilk 4-5 damla pipetten boşa akıtıldıktan sonra thoma lamının kamarasına doldurulmuştur. Thoma lamı üzerinden mikroskopta 1/5 mm^2 sayılarak çıkan değer $10^6/mm^3$ cinsinden kaydedilmiştir (Blaxhall ve Daisley 1973; Atamanalp 2000; Uçar, 2010).

Lökosit ve Trombosit sayısının tespiti

Eritrosit sayısının tespitindeki metodun aynıı uygulandıktan sonra lökositler için 4 mm^2 , trombositler için ise tüm kareler sayılarak bulunan sonuçlar $10^3/mm^3$ cinsinden hesaplanmıştır (Blaxhall ve Daisley 1973; Atamanalp, 2000; Uçar, 2010).

İstatistik Analizler

Deney verilerinin istatistik analizinde SPSS paket programı kullanılarak varyans analizi uygulanmıştır (Bingöl ve Kocamış, 2010).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Sucul canlılar yaşam ortamlarında gelişen herhangi bir stres faktörüne karşı reaksiyon gösterirler. Bu faktörler içerisinde ağır metal kirliliği önemli yer tutar. Balıklarda toksik etkili kimyasallar solungaç ve gastrointestinal sistem aracılığı ile vücuda alındıktan sonra kan hücreleri ve eritropoietik dokularda yapısal ve işlevsel bozukluklara neden olurlar (Witeska ve Baka, 2002). Çeşitli balık türlerinde yapılan çalışmalarda (Duran, 2011) kadmiyumun hücre zarında anomalilere sahip eritrosit sayısında artışa neden olduğu bildirilmiştir.

Kadmiyum toksisitesine karşı humik asit detoksifikasyon

etkisinin araştırıldığı kahverengi alabalıklara (*Salmo trutta fario*) ait hematolojik parametreler Çizelge 1'de verilmiştir. Bu çalışmamızda RBC değeri açısından kadmiyum ve humik asitin ayrı uygulamaları kontrole nazaran yüksek değerler vermiş olsa da humik asit+kadmiyum grubu 0.91 ± 0.20 ($10^6/\text{mm}^3$) ile en düşük değere sahiptir. Kadmiyum ve humik asitin ayrı ayrı uygulandığı gruplara oranla kadmiyum+humik asit grubu 0.91 ± 0.20 ($10^6/\text{mm}^3$) ile kontrole daha yakın değer vermiştir. Sonuçlarımıza paralel olarak *Cyprinus carpio*'da Cd'un 10 ppm'lik derişiminin 3 saat süreyle etkisinin incelendiği çalışmada eritrosit sayısının arttığı saptanmıştır (Witeska, 2001). Benzer çalışmalarda, Ezzat vd. (1974) bu değer *Tilapia zillii* de $1,8 \times 10^6/\text{mm}^3$, Satake vd. (1986) zırlı kedi balığı (*Hypostomus paulinus*)'nda $0,66-2,01 \times 10^6/\text{mm}^3$ aralığında olduğunu, Favaretto vd. (1978), kültüre alınmış vatoz balığı (*Hypostomus regani*)'nda $0,69 \times 10^6/\text{mm}^3$, Torres vd. (1986), noktali vatoz balığı (*Hypostomus punctatus*)'nda $1,00 \times 10^6/\text{mm}^3$ Santhakumar vd. (1999), *Anabas testudineus*'da $4,09 \times 10^6/\text{mm}^3$ olduğunu Atamanalp (2000) rapor etmiştir.

Bu çalışmada trombosit sayısı kontrol ve Cd+humik asit gruplarında sırasıyla $1.27 \pm 0.66 \times 10^4/\text{mm}^3$ ve $1.37 \pm 1.11 \times 10^4/\text{mm}^3$ olarak belirlenmiş, bu iki grup arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Atamanalp (2000), trombosit değerinin stresten önemli derecede etkilendiği ve gökkuşağı alabalıklarında stresten önce $2,1 \times 10^4/\text{mm}^3$ olarak tespit edilen bu değer stresten sonra $4,3 \times 10^4/\text{mm}^3$ 'e yükseldiğini bildirmiştir. Satake vd. (1986) bu değer zırlı kedi balığı (*Hypostomus pulinus*)'nda $1,657 \pm 0,341 \times 10^4/\text{mm}^3$ olduğunu ifade etmişlerdir.

Kan hücrelerinden eritrosit sayısı ile kan hücrelerinin seruma oranı olan hematokrit düzeyi, kanın oksijen taşıma kapasitesi ve eritropoietik dokuların işlevini yansıması açısından önemli bir parametredir (Witeska, 2005). Araştırmamızda en yüksek ortalama hematokrit değerini 58.42 ± 10.41 ile Cd grubu, en düşük değeri ise 33.80 ± 31.91 humik asit grubu vermiştir. Tüm gruplar arasında fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Humik asit uygulaması söz konusu parametre açısından olumlu sonuçlar vermiş ve kadmiyum ile birlikte kullanımında detoksifikasyon özelliği göstermiştir. Sonuçlarımıza paralel olarak Witeska (2004), sazanlarla (*C. caprio*) yaptığı çalışmasında, balıkları kadmiyumun 10 ppm'lik konsantrasyonuna 1 saat süre ile maruz bırakmış ve bu süre sonunda hematokrit düzeyinde artışın olduğunu bildirmiştir. Singh ve Tandon (2009), yaptıkları başka bir çalışmada farklı ağır metallere maruz bırakılan balıklarda belirlenen eritrosit ve % Hb içeriğinin düştüğünü bildirmişlerdir. Bu durum Cd+humik asit grubunda kaydedilen azalışa paralellik göstermektedir. Balıklarda hematokrit oranının balık türüne göre değiştiği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmektedir. Araştırmada elde edilen ortalama hematokrit oranı; gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) (Kocabatmaz ve Ekingen, 1984; Atamanalp, 2000), çin ot sazanı (*Ctenopharyngodon idella*) (Shakoori ve diğ. 1996); *Tilapia mossambica* (Aziz vd. 1993),

Heteropneustes fossilis (Kumar vd. 1999) türleri için elde edilen değerlerden yüksek bulunmuştur.

Kontrol grubundaki balıklardan alınan kan örneklerinde ortalama lökosit sayısı $2,41 \pm 0,92 \times 10^4/\text{mm}^3$ olarak belirlenmiştir. Muamele gruplarına ait lökosit sayısı, Cd, Cd+Humik Asit ve humik asit için sırasıyla $2.80 \pm 1.73 \times 10^4/\text{mm}^3$, $3.11 \pm 1.30 \times 10^4/\text{mm}^3$, $2.59 \pm 1.45 \times 10^4/\text{mm}^3$ olarak tespit edilmiştir. Lökosit sayısı, muamele grupları içerisinde en düşük humik asit grubunda belirlenmiştir. Araştırma sonucunda elde edilen ortalama değerlerden, kontrol grubu ile muamele grupları arasındaki farklılığın istatistiki olarak önemsiz olduğu bulunmuştur. Elde edilen veriler Atamanalp (2000) ve Santhakumar vd. (1999)'dan farklı değerlerdir.

Hemoglobün değeri en yüksek kontrol grubunda 10.98 ± 3.2 g/dl olarak belirlense de ortalama hemoglobün değerleri bakımından gruplar arasındaki fark önemli bulunmamıştır.

Tablo 1. Araştırmaya ait sonuçlar ve istatistiki analiz bulguları

Parametre	Muamele	Ortalama \pm SS
RBC ($10^6/\text{mm}^3$)	Kontrol	0.99 ± 0.36^b
	Cd	1.27 ± 0.56^b
	Cd+Humik Asit	0.91 ± 0.20^b
	Humik Asit	3.62 ± 1.61^a
WBC ($10^4/\text{mm}^3$)	Kontrol	2.41 ± 0.92^a
	Cd	2.80 ± 1.73^a
	Cd+ Humik Asit	3.11 ± 1.30^a
	Humik Asit	2.59 ± 1.45^a
Trombosit ($10^4/\text{mm}^3$)	Kontrol	1.27 ± 0.66^b
	Cd	0.85 ± 0.60^b
	Cd+ Humik Asit	1.37 ± 1.11^b
	Humik Asit	4.56 ± 2.6^a
Hemoglobün (g/dl)	Kontrol	10.98 ± 3.2^a
	Cd	8.17 ± 3.59^a
	Cd+Humik Asit	8.24 ± 2.41^a
	Humik Asit	9.02 ± 2.96^a
ESR (mm/h)	Kontrol	0.16 ± 0.11^a
	Cd	0.18 ± 0.15^a
	Cd+ Humik Asit	0.16 ± 0.08^a
	Humik Asit	0.25 ± 0.27^a
Hematokrit (%)	Kontrol	56.83 ± 12.21^a
	Cd	58.42 ± 10.41^a
	Cd+ Humik Asit	46.50 ± 20.16^{ab}
	Humik Asit	33.80 ± 31.91^b
MCV (μm^3)	Kontrol	657.81 ± 81.59^a
	Cd	593.30 ± 99.92^a
	Cd+ Humik Asit	510.98 ± 92.51^a
	Humik Asit	196.97 ± 109.46^b
MCH (pg)	Kontrol	122.17 ± 45.92^a
	Cd	68.67 ± 20.65^b
	Cd+ Humik Asit	90.31 ± 24.89^{ab}
	Humik Asit	28.86 ± 15.27^c
MCHC (%)	Kontrol	19.46 ± 2.77^a
	Cd	14.47 ± 3.39^a
	Cd+ Humik Asit	21.37 ± 3.14^a
	Humik Asit	16.55 ± 3.71^a

* $p < 0,05$, ÖD: İstatistiki olarak fark belirlenmedi, aynı harfler arasında istatistiki olarak fark yok, SS: Standart Sapma

Elde edilen sonuçlar Torres vd. (1986) ve Atamanalp (2000)'in rapor ettikleri değerlerden düşük belirlenirken Aziz vd. (1993) verilerine paralellik göstermektedir. Benzer şekilde ESR değerleri tüm gruplar arasında ortalama değer olarak yakın

sonuçlar vermiş ve bu parametre de istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). ESR değeri Atamanalp (2000)' den düşük belirlenmiş fakat McCarty vd. (1973), tarafından sağlıklı alabalıklar için verilen (0,0-8,0 mm/h) değerlerle uyumludur.

Hematolojik parametreler çevresel stresörlerin neden olduğu değişimlerin belirlenmesinde, balık sağlığını takip için kullanılan önemli indikatörlerdir. Genel bir kaide olarak MCV, MCH, hemoglobin ve hematokrit kirleticilerin bulunduğu ortamlardan yakalanan balıkların kanlarında önemli ölçüde artış gösterirler (Duran, 2011; Adeyemo vd. 2010). Bu durumun aksine çalışmamızda, MCV, MCH ve hematokrit değerleri, tüm muamele gruplarında kontrole nazaran oldukça düşük belirlenmiş ve gruplar arası fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Buna rağmen MCHC değerleri açısından gruplar arası fark önemsiz olarak kaydedilmiştir. MCHC değerleri kontrol, Cd, Cd+humik asit ve humik asit gruplarında sırasıyla 19.46 ± 2.77 , 14.47 ± 3.39 , 21.37 ± 3.14 , 16.55 ± 3.71 olarak belirlenmiş ve gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) (Atamanalp, 2000), tatlı su kefali (*Leuciscus cephalus*) (Haşiloğlu ve Atamanalp, 2002), ot sazani (*C. idella*) (Mughal vd. 1993), çipura (*Sparus aurata*) (Pages vd. 1995), somon (*Salmo salar*) (Sandnes vd. 1988) ve sazan balığı (*C. carpio*) (Yamawaki vd.

1986) türlerinden elde edilen değerlere benzer değerler vermiştir.

Sucul ortamlar doğal ve sentetik kirleticilerin sonlanma noktaları olduğundan bu ortamlardaki ağır metal birikimi biyolojik yaşamı tehdit etmektedir. Sucul organizmalar özellikle balıklar fizyolojik ve kimyasal değişikliklere oldukça duyarlıdır. Bu nedenle metal ve metal karışımlarının balıklar üzerine olan olumsuz etkilerini belirlemek ekosistemin geleceği ve besin zincirinin her halkasındaki canlılar için oldukça önemlidir (Fırat, 2007). Bu çalışmada *S. trutta fario* hematolojik parametrelerinin ağır metallere karşı oldukça duyarlı ve kirleticilere verilen tepkilerin belirlenmesine yararlı biyomarkırlar olduğu belirlenmiştir.

Son zamanlarda çevresel kirleticilerin biyolojik sistemler üzerindeki toksik etkilerini aydınlatmak için yapılan çalışmalar hızla artmış ve özellikle toksik maddeye cevap olabilecek detoksik madde kullanım imkanları araştırılmaya başlanmıştır. Sunulan bu çalışmada, kadmiyum toksisitesine karşı humik asitin koruyucu bir madde olarak kullanılabilirlik imkanları araştırılmış fakat başka çalışmalarla da desteklenilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Adeyemo, G.O., Ologhobo, A.D. Adebisi, O.A., 2010. The effect of graded levels of dietary methionine on the hematology and serum biochemistry of broilers. *International Journal of Poultry Science*, 9: 158-161. doi:10.3923/ijps.2010.158.161
- Atamanalp, M., 2000. The effects of sublethal doses of Cypermethrin on haematological and biochemical parameters of rainbow trout (*O. mykiss*). Atatürk Üniversitesi, Doktora Tezi.
- Atamanalp, M., E.M. Kocaman, A., Uçar, Alak, G., 2012. Kadmiyum toksisitesine karşı humik asitin koruyucu etkisinin kahverengi alabalıklarda (*Salmo trutta fario*) araştırılması. *Fen Edebiyat Dergisi*, 14(1): 405-415.
- Atamanalp, M., Keleş, M.S., Haliloğlu, H.İ., Aras, M.S., 2002. The effects of cypermethrin (A Synthetic Pyrethroid) on some biochemical parameters (Ca, P, Na and TP) of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 26: 1157-1160.
- Aziz, F., Amin, M., Shakoobi, R.A., 1993. Toxic Effects of Cadmium Chloride on the Haematology of Fish, *Tilapia mossambica*. *Proceedings of Pakistan Congress of Zoology*, 13: 141-154.
- Bingöl, S.A., Kocamış, H., 2010. The Gene Expression Profile by RT-PCR and Immunohistochemical Expression Pattern of Catalase in the Kidney Tissue of Both Healthy and Diabetic Mice. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16 (5): 825-83.
- Blaxhall, P.C., Daisley, K.W., 1973. Routine haematological methods for use fish with blood. *Journal of Fish Biology*, 5: 771-781. doi:10.1111/j.1095-8649.1973.tb04510.x
- Bricknell, I.R., Bowden, T.J., Bruno, D.W., MacLachlan, P., Johnstone, R., Ellis, A.E., 1999. Susceptibility of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*(L). to infection with typical and atypical *Aeromonas salmonicida*. *Aquaculture*, 175:1-13. doi:10.1016/S0044-8486(99)000253
- Çelik, E., Bircan, R., 2004. Çanakkale boğazı'ndaki siyah iskorpit balığı (*Scorpaena porcus Linnaeus, 1758*)'nin hematolojik parametrelerinin belirlenmesi. *F. Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(4): 735-744.
- Çelikkale, M.S., 1994. İç Su Balıkları ve Yetiştiriciliği, KTÜ Sürmene Deniz Bilimleri Fak. Genel Yayın No: 124, Fak. Yayın No: 2, Cilt 1, 2. Baskı, Trabzon, s,37.
- Çetin, N., Çetin, E., Güllü, B.K., 2006. Yumurta tavuklarında rasyona ilave edilen humat ve organik asitlerin bazı hematolojik parametreler üzerine etkisi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 53:165-168.
- Duran, S., 2011. Bakır (Cu), Çinko (Zn), Kadmiyum (Cd) ve Karışımlarının *Oreochromis niloticus*'ta bazı hematolojik parametreler üzerine etkileri. Çukurova Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi.
- Ezzat, A.A., Sharana, M.B., Farghaly, A.M., 1974. Studies on the blood characteristics of *tilapia zilli* blood cells. *Journal of Fish Biology*, 6: 1-12. doi:10.1111/j.1095-8649.1974.tb04516.x
- Favaretto, A.L.V., Sawaya, P., Petenusci, S.O., Lopes, R.A., 1978. Hematologia do Cascudo *Plecostomus regani*. I. Serie vermelha. *Biologica*, 4: 12-17.
- Fırat, Ö., 2007. *Oreochromis niloticus*'ta metal (Zn, Cd) ve metal karışımının (Zn+Cd) kan dokusunda fizyolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisi. Çukurova Üniversitesi, Doktora Tezi.
- Goss, G.G., Wood, C.M., 1988. The effects of acid/aluminum exposure on circulating plasma cortisol levels and other blood parameters in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Journal of Fish Biology*, 32: 63-76. doi:10.1111/j.1095-8649.1988.tb05335.x
- Haşiloğlu, M.A. Atamanalp, M., 2002. Demirdöven baraj gölü (Erzurum) tatlısu kefali (*Leuciscus cephalus*) populasyonu hematolojik parametrelerinin belirlenmesi. *OMU Ziraat Fakültesi Dergisi*, 17 (2): 34-38.
- Katalay, S. Parlak, H., 2004. The effects of cadmium on erythrocyte structure of black gobby (*Gobius niger* L., 1758). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 21(1-2): 99-102.
- Kayhan, F.E., Muşlu, M.N., Koç, N.D., 2009. Bazı ağır metallerin sucul organizmalar üzerinde yarattığı stres ve biyolojik yanıt. *Journal of Fisheries Sciences*, 3(2):153-162. doi:10.3153/jfscm.2009019.
- Kocabatmaz, M., Ekingen, G., 1984. Değişik tür balıklarda kan örneği alınması ve hematolojik metotların standardizasyonu. *Doğa Bilim Dergisi*, D1(8, 2):149-159.

- Kumar, S., Lata, M., Gopal, K., 1999. Deltamethrin induced physiological changes in freshwater Cat fish *Heteropneustes fossilis*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 62: 254-258. doi:10.1007/s001289900867
- McCarthy, D.H., Stevenson, D.P., Roberts, M.S., 1973. Some blood parameters of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* RICHARDSON). I. The Kamloops variety. *Journal of Fish Biology*, 5: 1-8. doi:10.1111/j.1095-8649.1973.tb04425.x
- Mughal, A.L., Iqbal, M.J., Shakoori, A.R., 1993. Toxicity of short term exposure of sublethal doses of a synthetic pyrethroid, fenvalerate, on the Chinese grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. *Proceeding Semi Aquaculture Development Pakistan*, 49-74.
- Pagés T., Gómez, E., Suárez, O., Viscor, G., Tort, L., 1995. Effects of daily management stress on haematology and blood rheology of the gillthead seabream. *Journal of Fish Biology*, 46: 775-786. doi:10.1111/j.1095-8649.1995.tb01601.x
- Rung, J.G., Hsin, L.Y., Jau, L.S., Fung, J.L., 2001. Induction of oxidative stress by humic acid through increasing intracellular iron: a possible mechanism leading to atherothrombotic vascular disorder in blackfoot disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 283: 743-749. doi:10.1006/bbrc.2001.4832
- Sandnes, K., Lie, Q., Waagbø, R., 1988. Normal ranges of some blood chemistry parameters in adult farmed atlantic salmon, *Salmo salar*. *Journal of Fish Biology*, 32: 129-136.
- Santhakumar, M., Balaji, M., Ramudu, K., 1999. Effect of sublethal concentrations of monocrotophos on erythropoietic activity and certain hematological parameters of fish *Anabas testudineus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 63: 379-384.
- Satake, T., Nuti-Sobrinho, A., Paula-Lopes, O.V., Lopes, R.A., Leme Dos Santos, H.S., 1986. Haematological study of brazilian fish. III. Blood parameters in armored catfish *Hypostomus paulinus* IHERING 1905 (Pisces, Loricariidae). *Ars Veterinaria, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias "Campus" de Jaboticabal Unesp*, 2 (2), Jaboticabal-SP-Brasil, 179-183.
- Schmidtke, L.M., Carson, J., 1999. Induction, characterisation and pathogenicity in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) of *Lactococcus garvieae* L-forms. *Veterinary Microbiology*, 69: 287-300. doi:10.1016/S0378-1135(99)00120-0
- Shakoori, A. R., Mughal, A.L., Iqbal, M.J., 1996. Effects of sublethal doses of fenvalerate (a synthetic pyrethroid) administered continuously for four weeks on the blo, liver and muscles of a freshwater fish, *Ctenopharyngodon idella*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 57: 487-494. doi:10.1007/s001289900216
- Singh, W.B.P., Tandon, P.K., 2009. Effect of river water pollution on hematological parameters of fish. *Research in Environment and Life Sciences*, 2(4):211-214.
- Stevenson, F.J., 1994. Humus Chemistry-Genesis, Composition. Reactions. John Wiley and Sons. New York, NY.
- Stickney, R.R., 1991. Culture of Salmonid fishes, School of Fisheries, University of Washington, Seattle, Washington, p 52.
- Talas, Z.S., Orun, I., Ozdemir, İ., Erdogan, K., Alkan, A., Yılmaz, I., 2008. Antioxidative role of selenium against the toxic effect of heavy metals (Cd⁺², Cr⁺³) on liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792). *Fish Physiology and Biochemistry*, 34:217-222. doi:10.1007/s10695-007-9179-9
- Torres, F. I. P., Moura, E.G., Nascimento, C.C.A., Contaifer Jr., C.F., Pimenta, M.A., Torres, E.B., 1986. Parametros bioquimicos e hematologicos de cascudos (*Hypostomus punctatus*). *Ciencia cultura*, 38: 825-830.
- Uçar, A., 2010. Doğal (karanfil yağı) ve sentetik (2-fenoksietanol) anestezi maddelerinin gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) ve kahverengi alabalığın (*Salmo trutta fario* Linnaeus, 1758) kan biyokimyası ve hematolojik parametreleri ile bazı enzim (G6PD, 6-PGD, GR, Katalaz) aktiviteleri üzerine etkileri. Atatürk Üniversitesi, Doktora Tezi.
- Witeska, M., 2001. Changes in the common carp blood cell picture after acute exposure to cadmium. *Acta Zoologica Litvanica*, 11: 366-371. doi:10.1080/13921657.2001.10512472
- Witeska, M. Baka, I., 2002. The Effect of Long-Term Cadmium Exposure on Common Carp Blood. *Fresenius Environm. Bulletin*, 11(12A): 1059-1065.
- Witeska, M., 2004. The effect of toxic chemicals on blood cell morphology in fish. *Fresenius Environmental Bulletin*. 13(12a): 1379-1384.
- Witeska, M., 2005. Stress in fish hematological and immunological effects of heavy metals. *Electronic Journal of Ichthyology*, 1: 35-41
- Wood, C.M., Al-Reasi, H.A., Smith, D.S., 2011. The two faces of DOC. *Aquatic Toxicology*. 105(3-4):3-8. doi:10.1016/j.aquatox.2011.03.007
- Yamawaki, K., Hashimoto, W., Fujii, K., Koyama, J., Ikeda, Y., Ozaki, H., 1986. Hemochemical changes in carp exposed to low cadmium concentrations. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 52 (3): 459-465. doi:10.2331/suisan.52.459
- Ying, J.C., Chao, S.L., Tien, S.H., Mei, L.Y., Fung, J.L., 2001. Humic acid induced growth retardation in a sertol cell line, TM4. *Life Science*, 69: 1269-1284. doi:10.1016/S0024-3205(01)01220-6