

## تعیین غلظت کشنده (LC<sub>50</sub>) کادمیم کلراید در ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*)

علی وابونیان<sup>۱</sup>، عبدالعلی موحدی نیا<sup>۱\*</sup>، علیرضا صفاهیه<sup>۱</sup> و سید علی اکبر هدایتی<sup>۲</sup>

۱. گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر.
۲. گروه تولید و بهره برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

### چکیده

آلاینده‌هایی از قبیل فلزات سنگین اثرات نامطلوبی بر آبزیان و در نهایت انسان به عنوان مصرف کننده نهایی دارند. کادمیم یکی از فلزات سمی موجود در پساب صنایع مختلف می‌باشد. لذا بررسی اثرات این آلاینده بر آبزیان ضروری به نظر می‌رسد. در این تحقیق سمیت حاد فلز کادمیم روی ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*) در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش‌ها به روش استاندارد طی ۹۶ ساعت انجام شد. آزمایشات اولیه به منظور یافتن محدوده کشندگی با قرار دادن ۶ عدد ماهی در داخل هر تانک با غلظت‌های ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر صورت گرفت. پس از تعیین محدوده کشندگی ماهی‌ها به طور تصادفی به ۸ گروه ۱۲ تایی با ۳ تکرار تقسیم شدند. میانگین وزنی ماهی‌ها بین ۱۰۰ تا ۱۲۰ گرم بود. یک گروه به عنوان شاهد و ۸ گروه تحت تیمار در معرض غلظت‌های ۱۵، ۲۵، ۳۵، ۴۵، ۵۵، ۶۵، ۹۵، ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر کادمیم کلراید قرار گرفتند. کلیه پارامترهای مهم فیزیوشیمیایی آب نظیر pH، اکسیژن محلول و درجه حرارت اندازه گیری شد. داده‌ها با استفاده از برنامه نرم افزاری SPSS و روش تحلیل آماری Probit Analysis مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقدار LC<sub>50</sub> حداکثر غلظت مجاز سمیت<sup>۳</sup> (MATC)، حداقل غلظت موثر<sup>۲</sup> (LOEC) و غلظت بی تأثیر<sup>۴</sup> (NOEC) برای ماهی شانک زرد باله پس از گذشت ۹۶ ساعت به ترتیب ۳۴/۹۷، ۳/۴۹۷، ۳۵ و ۲۵ میلی گرم بر لیتر کادمیم کلراید به دست آمد.

واژگان کلیدی: فلز سنگین، محدوده کشندگی، سمیت حاد، اکوتوکسیکولوژی.

\* نویسنده مسوول، پست الکترونیک: amovahedinia@yahoo.com

1. Maximum acceptable toxicant concentration
2. Lowest observed effect concentration
3. No observed effect concentration

## ۱. مقدمه

آب یکی از مهم‌ترین منابع برای اهدافی همچون آبی‌پروری و کشاورزی به شمار می‌رود. متأسفانه سرعت صنعتی‌سازی و همچنین رشد سریع جمعیت موجب رشد سریع آلودگی در منابع آبی شده است. فاضلاب‌های صنعتی به همراه فاضلاب‌های شهری، پساب‌های آبی‌پروری و زائدات شهری و همچنین سوخت‌های فسیلی از مهم‌ترین منابع آلاینده آب به شمار می‌روند. فاضلاب‌های صنعتی شامل انواعی از آلاینده‌های سمی مانند ترکیبات آلی و ترکیبات سمی فلزی می‌باشند. بنابراین پایش مواد سمی مختلف می‌تواند به عنوان عاملی در بررسی سلامت عمومی به شمار آید (Sharma, 2003).

بسیاری از فلزات به طور طبیعی از اجزای اصلی اکوسیستم‌های آبی هستند و تعدادی از آن‌ها در بقای موجودات زنده نقش حیاتی دارند (Demiark *et al.*, 2006). اما در صورتی که غلظت آن‌ها از حد معینی فراتر برود ممکن است باعث تغییر در روند طبیعی اکوسیستم‌های آبی و عملکرد صحیح اجزای بدن آبی‌زیان شود. از گروهی دیگر از فلزات به عنوان فلزات غیر ضروری نام برده می‌شود. جیوه، سرب و کادمیم هیچ‌گونه نقش بیولوژیکی شناخته شده‌ای در بدن انسان و یا سایر موجودات زنده ندارند و از این فلزات به عنوان فلزات سمی در محیط زیست نیز نام برده می‌شوند (Hatzer *et al.*, 2006). فلزات سنگین در محیط‌های آبی می‌توانند به صورت محلول، معلق و یا در کف دریا به صورت رسوب وجود داشته باشند و یا همچنین می‌توانند توسط موجودات آبی جذب و سپس وارد زنجیره غذایی شوند بنابراین بررسی و آنالیز فلزات سنگین در جانداران می‌تواند به عنوان شاخص انتقال فلزات در رده‌های غذایی نیز در نظر گرفته شود (Topcuoglu Turkmen *et al.*, 2009).

*et al.*, 2002;

کادمیم یکی از فلزات سنگینی است که از طریق فرسایش خاک و سنگ بستر، زائدات کارخانه جات صنعتی و آبکاری فلزات وارد اکوسیستم‌های آبی

می‌شود. این فلز به دلیل فعالیت‌های انسانی همانند خاکسترهای حاصل از فعالیت‌های معدن کاری و فعالیت‌های صنعتی و ... به محیط رها گشته و در آب و خاک افزایش می‌یابد. مطالعات نشان می‌دهد کادمیم باعث سرطان کبد و گنادهای حیوانات می‌شود. سمیت جذب کادمیم ممکن است باعث مرگ حیوانات و پرندگان شده و یا مسمومیت در آبی‌زیان را ایجاد کند. به نظر می‌رسد این آلاینده مقاومت دفاعی بدن را به خصوص مقاومت بدن میزبان در برابر باکتری‌ها و ویروس‌ها کاهش می‌دهد (Atamanalp *et al.*, 2002). مطالعات انجام شده نشان داده که ماهی گزیننه مناسبی برای مطالعه اثرات فلزات سنگین در اکوسیستم آبی می‌باشد، زیرا ماهیان در سطوح بالایی هرم غذایی قرار دارند. در این میان ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*) از مناسب‌ترین گونه‌های هدف در مطالعات توکسیکولوژی است، این ماهی به دلیل رژیم گوشتخواری در سطوح بالاتری از زنجیره غذایی قرار دارد و اغلب نزدیک رسوبات زندگی می‌کند. ماهی شانک با توجه به اینکه گوشت لذیذی دارد، در شهرهای جنوبی ایران و کشورهای حوزه خلیج فارس به وفور صید و مورد مصرف قرار می‌گیرد، و به میزان زیادی در منطقه عرضه می‌شود. این گونه به دلیل صید بی‌رویه در معرض خطر است (Hesp *et al.*, 2004). همچنین قابل توجه می‌باشد، ماهی شانک زرد باله دارای استعداد پرورشی بالایی می‌باشد و پرداختن به شرایط ایده آل به منظور پرورش این ماهی و هشدار، نسبت به عوارض شدید آلاینده‌های محیط زیست از جمله فلز سنگین کادمیم می‌تواند کمک موثری به بهبود تولید این محصول ارزشمند بنماید.

## ۲. مواد و روش‌ها

این تحقیق در پاییز ۱۳۸۹ در مرکز تحقیقات ماهیان دریایی بندر امام خمینی صورت گرفت. ماهی‌ها به مدت یک هفته جهت سازگاری با محیط اسارت

پس از تعیین محدوده کشندگی و به منظور انجام تست سمیت حاد ماهی‌ها به طور تصادفی در گرو های ۱۲ تایی و در ۸ تانک تقسیم شدند. یک تانک که غلظت کلرید کادمیم در آن صفر بود به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و در بقیه تانک‌ها به ترتیب غلظت های ۱۵،۲۵،۳۵،۴۵،۹۵،۶۵،۵۵ میلی گرم کادمیم به ازای هر لیتر آب اضافه شد. در هر ۲۴ ساعت و در زمان مشخص میزان مرگ و میر ماهی‌ها ثبت شد و همچنین در تمام مدت آزمایش فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی همانند درجه حرارت، شوری، pH و میزان اکسیژن اندازه گیری شد. پردازش آماری داده‌ها با استفاده از برنامه نرم افزاری SPSS و روش تحلیل آماری Probit analysis با سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. رسم نمودار با استفاده از نرم افزار Excel صورت گرفت.

### ۳. نتایج

در تمام مدت آزمایش کلیه پارامترهای مهم فیزیکی و شیمیایی آب نظیر pH، اکسیژن محلول، درجه حرارت و شوری اندازه گیری و به صورتی که در جدول شماره ۱ مشاهده می شود ثبت گردید.

جدول ۱. مقادیر پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب

مقدار	پارامتر
۲۴-۲۵	دما (°C)
۸/۴-۸/۶	pH
۶/۸	اکسیژن محلول (mg/l)
۴۷	شوری (ppt)

ماهیان در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر محدوده کشندگی بین ۱۰۰-۱۰ میلی گرم بر لیتر تعیین شد. در جدول ۲ نتیجه این آزمایش به تفکیک در ساعات ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ نشان داده شده است.

آداپتاسون شدند. در دوره آداپتاسیون دو بار غذا دهی می شد و در دوره آزمایش قطع غذا دهی صورت می گرفت (Chapman *et al.*, 1998)، بدین منظور ماهیان دو بار در روز با میگوی تازه به نسبت ۲ درصد وزن بدن آن‌ها تغذیه می شدند (Di Giulio and Hinton, 2008). آزمایش طبق روش استاندارد و تعیین غلظت کشنده کلرید کادمیم در مدت زمان کوتاه (۹۶ ساعت) به طور ثابت (استاتیک) انجام شد. از آنجایی که اطلاعات منتشره توکسیکولوژیک بر روی ماهی شانک زرد باله در دسترس نمی باشد و محدوده کشندگی کادمیم بر این ماهی مشخص نبوده، جهت تعیین غلظت کشندگی حاد کادمیم بر این ماهی، در این تحقیق تست تعیین محدوده کشندگی کادمیم (Range Finding Test) بر ماهیان مورد مطالعه و سپس تست LC<sub>50</sub> کادمیم صورت گرفت (Inyang *et al.*, 2010).

بدین منظور ۴ غلظت لگاریتمی و به صورت ۰/۱، ۱۰، ۱۰۰، ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر و همچنین یک شاهد برای تیمارها تعیین گردید. در هر غلظت ۶ ماهی ۱۰۰-۱۲۰ گرم قرار داده شد.

در آزمایش اولیه به منظور تعیین محدوده کشندگی ۴ غلظت لگاریتمی به صورت ۰/۱، ۱۰، ۱۰۰، ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر و یک شاهد انتخاب شد. با توجه به نتیجه این آزمایش و عدم مرگ و میر در غلظت های ۰/۱، ۱۰، ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر و از بین رفتن تمامی

جدول ۲. میزان مرگ و میر ماهی‌ها در تعیین تست محدوده کشندگی کادمیم (تعداد ماهی = ۶ عدد)

زمان (ساعت)	غلظت کادمیم (mg/l)	شاهد	۰/۱	۱	۱۰	۱۰۰
۲۴	.	.	.	.	.	۲
۴۸	.	.	.	.	.	۲
۷۲	.	.	.	.	.	۱
۹۶	.	.	.	.	.	۱

شد. بر اساس جدول شماره سه می‌توان بیان کرد بین غلظت کادمیم و مرگ و میر ماهی شانک زرد باله ارتباط مستقیمی وجود دارد.

پس از انجام تست محدوده کشندگی تست سمیت حاد (LC<sub>50</sub> 96h) در ۷ غلظت و یک تیمار شاهد انجام گرفت و پس از آن تعداد ماهی‌های تلف شده در هر غلظت و هر زمان شمارش و به صورت جدول نوشته

جدول ۳. میزان مرگ و میر ماهی‌ها در تست سمیت حاد (LC<sub>50</sub> 96h) کادمیم (تعداد ماهی = ۱۲ عدد)

زمان (ساعت)	غلظت کادمیم (mg/l)	۱۵	۲۵	۳۵	۴۵	۵۵	۶۵	۹۵
۲۴	.	.	۱	۲	۳	۵	۸	۱۰
۴۸	.	.	۱	۲	۳	۴	۴	۲
۷۲	.	.	.	۱	۲	۳	-	-
۹۶	.	.	.	۱	۲	-	-	-

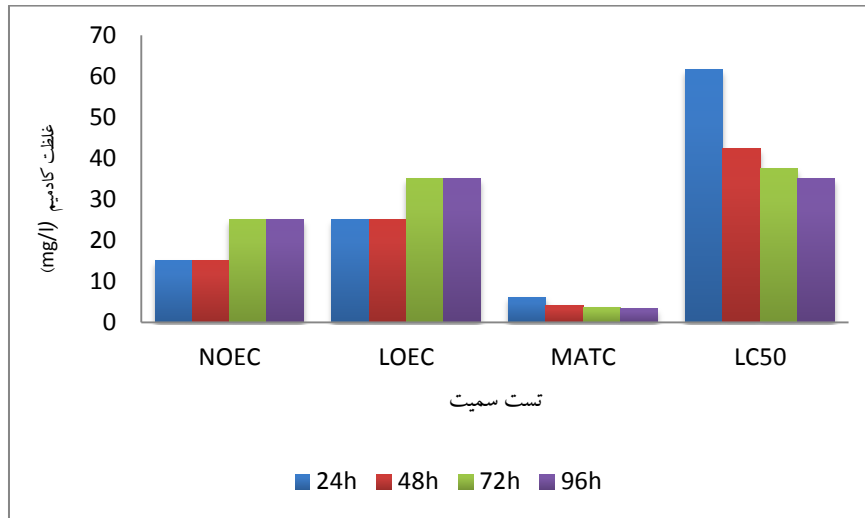
مقدار LC<sub>50</sub> در ۹۶ ساعت پس از وارد کردن داده‌ها به نرم افزار (SPSS) ۳۴/۹۷۰ میلی گرم بر لیتر کادمیم در ماهی شانک زرد باله محاسبه شد.

جدول ۴. غلظت کشنده (LC<sub>1-99</sub>) کادمیم کلراید وابسته به زمان ماهی شانک زرد باله

Probit	۲۴h	۴۸h	۷۲h	۹۶h
LC <sub>1</sub>	۰/۴۷۳	۹/۹۱۸	۱۰/۲۲۶	۱۱/۵۲۵
LC <sub>5</sub>	۱۸/۳۸۸	۱۹/۴۴۶	۲۰/۰۱۲	۱۹/۹۴۷
LC <sub>10</sub>	۲۷/۹۳۸	۲۴/۵۲۶	۲۴/۴۴۲	۲۳/۷۵۹
LC <sub>15</sub>	۳۴/۳۸۱	۲۷/۹۵۲	۲۷/۱۸۵	۲۶/۱۲۰
LC <sub>50</sub>	۶۱/۶۲۶	۴۲/۴۴۳	۳۷/۴۶۹	۳۴/۹۷۰
LC <sub>85</sub>	۸۸/۸۷۰	۵۶/۹۳۳	۴۷/۷۵۳	۴۳/۸۲۰
LC <sub>90</sub>	۹۵/۳۱۴	۶۰/۳۶۰	۵۰/۴۹۶	۴۶/۱۸۰
LC <sub>95</sub>	۱۰۴/۸۶۴	۶۵/۴۳۹	۵۴/۹۲۶	۴۹/۹۹۳
LC <sub>99</sub>	۱۲۲/۷۷۸	۷۴/۹۶۷	۶۴/۷۱۳	۵۸/۴۱۵

بررسی نتایج تست های مختلف در شکل ۱ بالا رفتن شاخص NOEC و LOEC را با افزایش زمان نشان می دهد.

با توجه به نتایج تست سمیت حد ( $LC_{50}$ ) در ساعت های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ می توان گفت با افزایش زمان، مرگ و میر در ماهی ها کاهش می یابد و



شکل ۲. مقایسه نتایج تست های مختلف کادمیم در ماهی شانگ زرد باله.

کلی آلاینده ها در موجوداتی که اطلاعاتی از سمیت آلاینده مورد نظر در آن ها وجود ندارد استفاده می شود.

به طور کلی از تست های سمیت حد به عنوان یک شاخص مناسب به منظور بررسی اثرات کوتاه مدت آلاینده ها و همچنین یک مقایسه ساده بین مقدار اثرات مختلف آلاینده ها بر ماهی و همچنین میزان حساسیت ماهی نام برده می شوند (Buikema et al., 1982) بنابراین در ارزیابی خطرات آلاینده های محیط زیست در تعیین محیط زندگی ایده آل به منظور محافظت از موجودات آبی از مقادیر ۰/۱ تا ۰/۰۱ مقدار  $LC_{50}$  استفاده می کنند (Jiunn and Cheng, 2000). در تحقیق حاضر مقدار  $LC_{50}$  ماهی شانگ زرد باله در مواجهه با کادمیم کلراید پس از گذشت مدت زمان ۹۶ ساعت ۳۴/۹۷۰ میلی گرم بر لیتر کادمیم محاسبه شد و نشان داده شد که با افزایش غلظت کادمیم کلراید مقدار  $LC_{50}$  کاهش می یابد. همچنین با توجه به مقدار  $LC_{50}$  به دست آمده حداکثر غلظت مجاز سمیت (۱۰ درصد غلظت  $LC_{50}$ )، ۳/۴۹۷ میلی گرم بر لیتر به دست آمد. همچنین غلظت بی اثر

پس از در معرض قرار گرفتن ماهی ها با سمیت حد کادمیم رفتار های غیر عادی همانند اختلال در شنا، ترشحات غیر عادی در پوست (افزایش موکوس)، سفیدشدگی چشم ها، قرمز شدن دهان و خوردگی باله ها، خونریزی در باله های پشتی و سینه ای، تجمع در اطراف سنگ هوا و یا سطح آب و همچنین در برخی از ماهیان رفتارهای عصبی مشاهده شد.

#### ۴- بحث و نتیجه گیری

در دنیای صنعتی امروز افزایش آلودگی های محیطی همانند فلزات سنگین و بالا رفتن مقدار آن ها بیش از حد مجاز در اکوسیستم های آبی موجب افزایش نگرانی های زیادی شده است (Diagomanolin et al., 2004). به منظور مطالعه اثرات حاد و مزمن در موجودات آبی عموماً از آزمایشات سم شناسی حاد و مزمن استفاده می کنند و در این میان به منظور به دست آوردن سریع اطلاعات از آزمایش های کوتاه مدت (حاد) به نسبت بیشتر از آزمایش های طولانی مدت (مزمن) استفاده می شود. از این آزمایش ها (کوتاه مدت) به طور کلی به منظور تعیین سمیت

درجه حرارت، شوری، سختی و مقدار اکسیژن محلول در آب نسبت داد. همچنین می توان علت مقادیر متفاوت حد کشنده را حتی در یک گونه واحد، تفاوت در اندازه و سن گونه‌ها ی مورد آزمایش نسبت داد، ماهیان کوچک‌تر و جوان تر نسبت به ماهیان بالغ و بزرگ‌تر به مسمومیت فلز سنگین از جمله کادمیم حساسیت بیشتری را از خود نشان می‌دهند ( Jiunn and Cheng, 2000).

### منابع

- Atamanalp, M., Keles, M.S., Haliloglu, H.L and Aras, M. S. 2002. The effects of Cypermethrin (a synthetic pyrethroid) on some biochemical parameter of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Turkish journal of Veterinary Animal science: 1157-1160.
- Buikema, A. L. Jr., Niedertehner, R.R and Carins, J. 1982. Biological monitoring Part 4 – toxicity testing. Water Res. 16: 239-262
- Chapman, P.M. Dexter, R. N and Long, E. R. 1998. Synoptic measures of sediments contamination, toxicity and infaunal community composition (the Sediment Quality Triad) in San Francisco Bay. Mar. Ecol. Progr. Ser. 37: 75-93.
- 4-Demiark, A.F., Yilmaz, A.L. and Tura, N. 2006. heavy metal in water, sediment and tissue of *Leuciscus cephalus* from a stream in southwestern Turkey. chemosphere: 1451-1458.
- Diagomanolin, V., Farhang, M., GhaziKhansari, M and Jafarzadeh, N. 2004. Heavy metals (Ni, Cr, Cu) in the Karoon Waterway river, Iran. Aquatic Toxicology. 50: 63-68.
- Di Giulio, R. T and Hinton, D. E. 2008. the toxicology of fishes. Taylor & Francis Group. pp: 1101
- Hatzer, A. Daughney, C.J and Morgan, H.W. 2006. Cadmium ion Biosorption by the thermophilic bacteria *Geobacillus stearothermophilic* and *Geobacillus thermocatenulatus*. Applied and Environmental Microbiology. 72(6): 4020-4027.
- Hesp, S.A., Potter, I.C and Hall, N.G. 2004. Reproduction biology and protandrous hermaphroditism in *Acanthopagrus latus*. Environ. Biol. Fish. 70: 252–272.

(NOEC) ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر و حداقل غلظت موثر (LOEC) ۳۵ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه شد. به بالاترین غلظتی که اثر نامطلوب بر موجود مورد آزمایش ایجاد نکند غلظت بی اثر گفته می‌شود. از دیگر پارامترهای مهم در میزان سمیت فلزات سنگین بر موجودات آبی می توان از فاکتورهای فیزیکی شیمیایی محیط همانند درجه حرارت، شوری و مقدار اکسیژن محلول نام برد؛ در تحقیق Waiwood و Beamish در سال ۱۹۷۸ نشان داده شده در آب‌هایی با سختی و شوری بالا آبزبان به فلزات سنگین حساسیت کمتری را نشان می‌دهند.

حیوانات از جمله ماهی‌ها به مسمومیت کادمیم مقدار تحمل مختلفی را نشان می‌دهند اما در مطالعات انجام شده در میان آبزبان مختلف نشان داده شده که گونه تیلاپیا کم‌ترین حساسیت را به فلز سنگین کادمیم از خود نشان داده است (Tsay et al., 1981)؛ در تحقیقاتی مشابه که توسط Amrollahi و همکاران (۲۰۱۰) بر خامه ماهی (*Chanus chanus*) و Brunelli و همکاران (۲۰۱۰) بر ماهی *Dicentrachus labrax* انجام گرفت مقدار  $LC_{50}$  به ترتیب ۶۲/۸ و ۶/۱۷ میلی‌گرم کادمیم کلراید محاسبه شده است. Kasherwani و همکاران در سال 2009 میزان  $LC_{50}$  96h کادمیم را بر روی گربه ماهی *Heteropneustes fossilis* در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت به ترتیب ۴۳۴/۷۴، ۳۱۱/۸۸، ۴۰۱/۴۰۹ و ۳۹۲/۹۲ میلی‌گرم در لیتر بدست آوردند. میزان  $LC_{50}$  96h کادمیم برای ماهی گویی (*Poecilia reticulata*) توسط Yilmaz و همکاران در سال ۲۰۰۴ به میزان ۳۰/۴ میلی‌گرم در لیتر بوده است. Hon-Cheng Chen و Wen-Jiunn Shyong در سال ۲۰۰۰،  $LC_{50}$  96h کادمیم را برای ۲ گونه ماهی آب شیرین *Varicorhinus barbatus* و *Zacco barbata* به ترتیب ۱/۵۰۲ و ۱/۵۱۰ میلی‌گرم در لیتر به دست آوردند. به طور کلی می‌توان اختلاف در مقادیر محاسبه شده را در اختلافات فیزیولوژیکی این سه گونه و همچنین تفاوت در شرایط آزمایش همانند

- Tsay, T. T. and Yu, T. C. 1981. Acute toxicity of some heavy metals to *Tilapia* sp. and eel (*Anguilla japonica*) and oyster (*Crassostrea. gigas*) Bull. Taiwan Fish. Res. Inst. 33: 581-586.
- Waiwoo, G. Beamish, F. 1978. The effects of copper, hardness and pH on the growth of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. J. Fish Biol. 13: 591-598.
- Wen-Jiunn ,S. and Hon-Cheng, C. 2000. Acute Toxicity of Copper, Cadmium, and Mercury to the Freshwater Fish *Varicorhinus barbatus* and *Zacco barbata*. Acta Zoologica Taiwanica. 11(1): 33-45.
- Inyang, I. Daka, E and Ogamba, E. 2010. Changes in electrolyte activities of *Clarias gariepinus* exposed to diazinon. Biol Environ Sci: 198-200.
- Kasherwani, D. Lodhi, H. Tiwari, K and Shukla, S. 2009. Cadmium Toxicity to Freshwater Catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). Asian J. Exp. Sci. 23 (1): 149-156.
- Pickering, Q. H. and Henderson, C. 1966. The acute toxicity of some heavy metals to diferent species of warmwater fishes. Intl J. AirWater Poll. 10: 453-463.
- Sharma, P. D. 2003. Environmental Pollution. In: Ecology and Environment (7<sup>th</sup> Edition) Rastogi.Publication. Meerut, India. pp: 415-489.
- Topcuoglu, S., Kirbas\_oglu, C and Gungo r, N. 2002. Heavy metals inorganisms and sediments from Turkish Coast of the Black Sea. Environmental International. 1069: 1-8.
- Turkmen, M., Turkmen, A, Tepe. Y and Ates, A. 2009. Determination of metalsin fish species from Aegean and Mediterranean Seas. Food Chemistry. 113: 233-237.