

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Onur ÜNAL

***Oreochromis niloticus*'da KARACİĞER, BÖBREK, SOLUNGAÇ VE
KAS DOKULARINDA ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜLLERİ VE
ÇİNKO SÜLFATIN BİRİKİMİ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA-2021

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Oreochromis niloticus*'da KARACİĞER, BÖBREK, SOLUNGAÇ VE KAS
DOKULARINDA ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜLLERİ VE ÇİNKO
SÜLFATIN BİRİKİMİ**

Onur ÜNAL

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman : Prof. Dr. Ferit KARGIN
Yıl: 2021, Sayfa: 59
Jüri : Prof. Dr. Ferit KARGIN
: Prof. Dr. Hikmet Y.ÇOĞUN
: Dr.Öğr. Üyesi. Benay TUNÇSOY

Bu araştırmada ZnO NP ve ZnSO₄'ın etkisine bırakılan *Oreochromis niloticus* 'un böbrek, karaciğer, solungaç ve kas dokularında çinko birikimi karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Balıklar 0. 5, 2.5 ve 5.0 mg/L ZnO NP ve ZnSO₄ ' ın ortam derişimlerine 3 ve 15 günlük sürelerle bırakılarak dokularındaki çinko birikimi Atomik Absorbsiyon Spektrofotometrik yöntemlerle saptanmıştır.

Bu çalışmada ZnO NP ve ZnSO₄'ın etkisine bırakılan balıkların dokularında çinkonun birikimi ortamdaki Zn derişimi ve sürenin artmasıyla artmıştır. En yüksek çinko birikimi böbrek dokusunda olmuş, bunu solungaç, karaciğer ve kas dokusu izlemiştir.

Denenen tüm şartlarda ZnO NP'lerin etkisine bırakılan balıkların dokularındaki çinko birikimi, ZnSO₄'ın etkisine bırakılan balıklara oranla daha düşük düzeyde olduğu bulunmuştur. Her iki sürede de ZnO NP'lerin etkisinde kalan balıkların böbrek dokusundaki çinko düzeyleri ZnSO₄'ın etkisinde kalan balıklara oranla daha düşük olduğu saptanmıştır. 3 günlük deney süresinde ZnO NP'lerin etkisinde kalan balıkların solungaç ve kas dokularında çinko birikimi ZnSO₄'ın etkisinde kalan balıklara oranla düşük olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Çinko, Nanopartikül, *O. niloticus*, Birikim

ABSTRACT

MSc THESIS

ACCUMULATION OF ZINC OXIDE NANOPARTICLES AND ZINC SULPHATE IN LIVER, KIDNEY, GILL AND MUSCLE TISSUES IN *Oreochromis niloticus*

Onur ÜNAL

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOLOGY

Supervisor : Prof. Dr. Ferit KARGIN
Year: 2021, Pages: 59
Jury : Prof. Dr. Ferit KARGIN
: Prof. Dr. Hikmet Y.ÇOĞUN
: Asst. Prof. Dr. Benay TUNÇSOY

In this study, zinc accumulation in kidney, the liver, gill and muscle tissues of *Oreochromis niloticus* were investigated in both ZnO NP and ZnSO₄. The fish were exposed to 0, 5, 2.5 and 5.0 mg/L ZnO NP and ZnSO₄ for 3 and 15 days. Levels of zinc in various tissues was measured by Atomic Absorbtion Spectrophotometric Methods.

In this study, zinc accumulations in the tissues after to ZnO NP and ZnSO₄ for 3 and 10 days increased with increasing concentrations of Zn and time in the medium. The highest accumulation occurred in the kidney followed by gill, the liver and muscle.

It was found that the zinc accumulation in the tissues of fish exposed to ZnO NPs in all tested conditions was lower than those of fish exposed to ZnSO₄. It was determined that the zinc levels in the kidney tissue of fish exposed to ZnO NPs in both periods were lower than those of fish exposed to ZnSO₄. It was determined that the zinc accumulation in the gill and muscle tissues of the fish exposed to ZnO NPs during the 3-day experiment was lower than that of fish exposed to ZnSO₄.

Key Words: Zinc, Nanoparticles, *O. niloticus*, Accumulation

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Ağır metaller, toksik oluşları, biyolojik olarak parçalanabilmelerinin zor olması ve organizmalarda birikimleri nedeniyle su ortamının ciddi kirletici maddeleri olarak kabul edilirler. Ağır metaller ve bunların doğal ve antropojenik faaliyetlerinden kaynaklanan bileşenleri, tüm dünyadaki su ortamlarını kirletmektedir. Ağır metaller, toksik olmaları ve birikim özellikleri nedeniyle önemli bir su kirleticileri grubu olarak düşünülmektedir. Sucul organizmalar, suda bulunan doğal bileşiklerin etkilerine adapte olmakla birlikte, ağır metaller, pestisit gibi çeşitli kirleticilere maruz kalmakta ve etkilenmektedirler.

Çinko endüstrinin birçok alanında ve tarımda gübrenin yapısında kullanılan önemli bir metaldir. Çinko doğada en çok bulunan geçiş metallerinden biridir ve tüm canlı dokularının temel bir bileşenidir. Zn normal büyüme, üreme ve diğer işlemler için gerekli olmasına rağmen, yüksek derişimlerde sudaki organizmalar için toksik hale gelebilir. Çinko oksit nanopartikülleri (ZnO NP) tipik metal oksit NP'lerdir ve yüksek stabilite, antikorozyon ve fotokatalitik özelliklerinden ötürü plastikler, seramik, cam, çimento, kauçuk, yağlayıcılar, boyalar, pigmentler, gıdalar ve pillerin yapısında geniş bir şekilde kullanılmaktadır. Buna ek olarak, ZnO NP'ler mükemmel UV absorpsiyonu ve yansıtıcı özelliklerinden dolayı, kozmetik ve güneşten koruyucu gibi kişisel bakım ürünlerinin ortak bileşenleridirler. ZnO NP'ler zehirli ve değişen biyokimyasal özelliklerinden dolayı, su ortamında bulunan en zararlı metal oksit nanopartiküllerden biri olarak kabul edilmektedir.

Bu araştırmada çinko oksit nanopartiküllerinin ve çinko sülfatın farklı derişimlerinin etkisinde *Oreochromis niloticus*'un, böbrek, solungaç, karaciğer ve kas dokularında çinko birikiminin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Karaciğer dokusunda ZnO NP etkisindeki çinko birikimi tüm derişim ve sürelerde kontrole oranla artış göstermiştir. 3 ve 15 günlük etki sürelerinde derişimdeki artışa paralel olarak çinko birikiminin de artış gösterdiği belirlenmiştir. ZnSO₄ etkisinde karaciğer dokusundaki Zn birikimi, 0.5 mg/L ZnO NP hariç tüm

derişim ve sürelerde kontrole oranla artış göstermiştir. 3 ve 15 günlük etki süresinde 5.0 mg/L'lik derişimde 0.5 ve 2.5 mg/L'lik derişimlere oranla birikimin daha yüksek olduğu saptanmıştır. ZnSO₄ etkisinde kalan balıkların karaciğerindeki Zn birikimi ZnO NP etkisinde kalan balıklara oranla daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Böbrek dokusunda ZnO NP etkisindeki Zn birikimi tüm derişim ve sürelerde kontrole oranla artış göstermiştir. Her iki etki süresinde derişimdeki artışa paralel olarak çinko birikiminin artış gösterdiği ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır. ZnSO₄ etkisinde böbrek dokusundaki Zn birikimi, tüm derişim ve sürelerde kontrole oranla arttığı belirlenmiştir. 3 ve 15 günlük etki süresinde derişimler arasında çinko birikimi bakımından istatistiksel olarak önemli farklılıklar olduğu belirlemiştir. Denenen tüm derişimlerde ZnSO₄ etkisinde böbrek dokusundaki Zn birikimi ZnO NP etkisinde kalanlara oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Denenen tüm derişim ve sürelerde ZnO NP etkisine bırakılan balıkların solungaç dokusunda Zn birikimi kontrole oranla artış göstermiştir. Hem 3 hem de 15 günlük etki süresinde ZnO NP'nin ortam derişimindeki artışa paralel olarak çinko birikiminin önemli bir artış gösterdiği belirlenmiştir. ZnSO₄ etkisinde solungaç dokusundaki Zn birikimi, denenen tüm derişim ve sürelerde kontrole oranla artış gösterdiği belirlenmiştir. Her iki etki süresinde de ZnSO₄ ortam derişimindeki artışa paralel olarak solungaç dokusu çinko birikiminin artış gösterdiği ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır. Denenen tüm derişimlerde ZnSO₄ etkisinde solungaç dokusundaki Zn birikimi ZnO NP etkisindeki balıklara oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Denenen tüm derişim ve sürelerde ZnO NP etkisine bırakılan balıkların kas dokusunda Zn birikimi kontrole oranla artış göstermiştir. Her iki etki süresinde de ZnO NP ortam derişimlerindeki artışa paralel olarak kas dokusu çinko birikiminin önemli artış gösterdiği ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir. Kas dokusu Zn birikimi, denenen her iki sürede ve tüm ZnSO₄ derişimlerinde

kontrole oranla artış gösterdiği belirlenmiştir. 3 ve 15 günlük etki sürelerinde derişim artışına paralel olarak çinko birikiminin arttığı saptanmıştır. Denenen tüm derişimlerde $ZnSO_4$ etkisinde kas dokusundaki Zn birikimi ZnO NP etkisindeki balıklara oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır.

3 ve 15 günlük süreler sonunda hem ZnO NP ve hemde $ZnSO_4$ 'ün belirli bir ortam derişimi dikkate alındığında çinko birikimi bakımından dokular arasında da önemli farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Çinko birikimi en fazla böbrek dokusunda olmuş, bunu solungaç, karaciğer ve kas dokusu izlemiştir.





TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamın her aşamasında beni yalnız bırakmayan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sayın hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Ferit KARGIN hocama sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Çalışmalarım sırasında bana her türlü yardım ve desteğini veren saygıdeğer hocam Prof. Dr. Hikmet Yeter ÇOĞUN ve Dr.Öğr. Üyesi Özge TEMİZ hocama teşekkür erdim.

Bu güne kadar bana her türlü desteği sağlayan ve aldığım her kararda yanımda olan aileme teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XIV
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	9
3. MATERYAL VE METOD	13
3.1. Materyal.....	13
3.2. Metod.....	15
3.2.1. İstatistik	16
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	17
4.1. Bulgular	17
4.2. Tartışma	29
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	39
KAYNAKLAR	43
ÖZGEÇMİŞ	59



ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1. Taramalı elektron mikroskop (SEM) ölçüm sonuçları.....	14
Çizelge 4.1. ZnO NP ve ZnSO ₄ 'ün etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'da karaciğer dokusunda çinko birikimi ((µg/g k.a.)	18
Çizelge 4.2. ZnO NP ve ZnSO ₄ 'ün etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'da böbrek dokusunda çinko birikimi ((µg/g k.a.)	21
Çizelge 4.3. ZnO NP ve ZnSO ₄ 'ün etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'da solungaç dokusunda çinko birikimi ((µg/g k.a.).....	24
Çizelge 4.4. ZnO NP ve ZnSO ₄ 'ün etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'da kas dokusunda çinko birikimi ((µg/g k.a.).....	27



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 3.1. Taramalı elektron mikroskobu görüntüsü.....	14
Şekil 4.1. ZnO NP ve ZnSO ₄ 'ün etkisine 3 (A) ve 15 (B) günlük sürelerle bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusunda çinko birikiminin karşılaştırılması (µg Zn/g k.a.).....	19
Şekil 4.2. ZnO NP ve ZnSO ₄ 'ün etkisine 3 (A) ve 15 (B) günlük sürelerle bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un böbrek dokusunda çinko birikiminin karşılaştırılması (µg Zn/g k.a.).....	22
Şekil 4.3. ZnO NP ve ZnSO ₄ 'ün etkisine 3 (A) ve 15 (B) günlük sürelerle bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un solungaç dokusunda çinko birikiminin karşılaştırılması (µg Zn/g k.a.).....	25
Şekil 4.4. ZnO NP ve ZnSO ₄ 'ün etkisine 3 (A) ve 15 (B) günlük sürelerle bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un kas dokusunda çinko birikiminin karşılaştırılması (µg Zn/g k.a.).....	28



SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	: santigrad derece
cm	: santimetre
dk	: dakika
gr	: gram
µg	: mikrogram
M	: molarite
mg	: miligram
ml	: mililitre
mg/L	: Litre başına miligram
mm	: milimetre
nm	: nanometre
sn	: saniye
µl	: mikrolitre
g k.a.	: gram kuru ağırlık



1. GİRİŞ

Son zamanlarda, hızlı endüstriyel ve tarımsal ilerlemenin bir sonucu olarak çeşitli organik ve inorganik maddelerden kaynaklanan çevre kirliliği büyük dikkat çekmiştir (Hussain ve Kaphalia, 1990). Madencilik, sanayi ve tarımsal faaliyetler, suda metal konsantrasyonlarının artışına neden olmakta bu da sublethal konsantrasyonlarda bile su ortamında zararlı etkiler oluşturmaktadır (Sorensen 1991). Metaller, insanlar tarafından yaratılmayan veya yok edilmeyen, ancak yalnızca çeşitli ürünlere taşınan ve dönüştürülen doğrudan veya dolaylı olarak sucul ve karasal hayvanların büyümesini ve yaşamını etkileyen benzersiz çevresel kirleticilerdir (Goel ve ark., 1987). Ağır metaller, toksik oluşları, biyolojik olarak parçalanabilmelerinin zor olması ve organizmalarda biyo-birikimleri nedeniyle su ortamının ciddi kirletici maddeleri olarak kabul edilirler. Ağır metaller ve bunların doğal ve antropojenik faaliyetlerinden kaynaklanan bileşenleri, tüm dünyadaki su ortamlarını kirletmektedir (Guzman ve ark., 2010; Asano ve ark., 2010). Ağır metaller, toksisik olmaları ve birikim özellikleri nedeniyle önemli bir su kirletici grubu olarak düşünülmektedir (Sathya ve ark., 2012). Sucul organizmalar, suda bulunan doğal bileşiklerin etkilerine adapte olmakla birlikte, ağır metaller, pestisit gibi çeşitli kirleticilere maruz kalmakta ve etkilenmektedirler

Metal iyonları, hücresel yapıları bozan veya metabolik fonksiyonu etkileyebilecek muhtemel mekanizmalar ile organizmalara hücresel düzeyde zarar verebilirler. Örneğin, metal iyonları gerekli metabolik kofaktörlerin yerini alabilirler ve hücrelerdeki makromoleküllere, özellikle enzimlere bağlanarak aktivitelerini değiştirebilirler (Tucker, 1979). Ağır metaller, kemikli balıkların önemli osmoregülasyon sistemlerinde iyon taşınımını engellemekte, solungaç, beyin ve böbrek gibi çeşitli organlara yapısal hasar verebilmektedirler (Thaker ve ark., 1996).

Tatlı suda akut toksikliği indükleyen Cu, Cd ve Zn düzeyleri, suyun kimyasına, balık türlerine, yaşam evresine ve sıcaklığa bağlı olarak büyük ölçüde

değişebilmektedirler (Hogstrand and Wood, 1996). Bununla birlikte, doğal olmayan sularda, ağır metaller genellikle yalnızca sublethal konsantrasyonlarda bulunurlar. Cu, Cd veya Zn'nin kronik etkisinde kalan balıklarda, iştah kaybı, büyümenin azalması, iyon kaybı ve mortaliteyi içeren çeşitli fizyolojik ve davranışsal değişikliklerin olduğu gösterilmiştir (Hogstrand ve Wood, 1996; De Boeck ve ark., 1997; Scherer ve ark., 1997). Ayrıca, kronik subletal etkiler genellikle aklimasyon ile sonuçlanır ki bu bir fizyolojik süreçtir ve etkide kalınan metalin akut etkilerine artan bir toleransla yanıt verilmesidir. (McGeer ve ark., 2000).

Çinko endüstrinin birçok alanında ve tarımda gübrenin yapısında kullanılan önemli bir metaldir. Çinkonun tatlı su habitatlarında yaklaşık 4.50-20 g/l'lik konsantrasyonlarda olduğu bildirilmiştir (Adhikari ve ark., 2009). Çinko doğada en çok bulunan geçiş metallerinden biridir ve tüm canlı dokularının temel bir bileşenidir. Zn, organizmalar için gerekli bir mikro besindir, bir antioksidan ve 200 vital enzimin bir bileşeni olarak kabul edilen bir elementtir (Bury ve ark. 2003). Zn normal büyüme, üreme ve diğer işlemler için gerekli olmasına rağmen (Eisler, 1993), yüksek konsantrasyonlarda sudaki organizmalar için toksik hale gelebilir (Bielmyer ve ark., 2012). Nispeten düşük çevresel Zn konsantrasyonlarında bile, balıklarda dokularda Zn birikiminin olduğu belirlenmiştir (Shyn ve ar. 2012).

Nanomateriyaller, büyük yüzey alanı ve yüksek reaksiyon aktivitesi de içeren yeni özelliklerinden dolayı gittikçe artan bir ilgi görmektedir (Almelia ve ark., 2012; Yan ve ark., 2012). Nanoteknolojinin hızla gelişmesi nedeniyle çeşitli şekil ve çaplara sahip nanomateriyaller hazırlanmış ve bazı endüstriyel ürünler ve hammaddelerde kullanılmıştır (Laurent, ve ark., 2008; Joh ve ark., 2011). Nanomateriyallerin kişisel, ticari, tıbbi ve askeri uygulamalarda kullanan yüzlerce ürünü bulunmaktadır (Griffitt ve ark., 2007; Klaine ve ark., 2008). 100 nm veya daha düşük boyutlara sahip bu mühendislik ürünü nanomateriyaller, elektronik, sağlık, kozmetik, teknoloji ve mühendislik endüstrisinde geniş bir alanda yeni uygulamalar sağlamıştır (Lanone ve ark., 2009). Bununla birlikte, küçük

boyutlarından dolayı, maruz kalma ile bu nanomateryaller, küçük ölçekleriyle hücre zarı içine serbestçe girebilmektedir, bunların girişi, materyal, boyut ve organizmaya bağlı olarak değişim gösterir. Bu nedenle, nanomateryallerin akut ve kronik toksik etkilerini değerlendirilmesine gereksinim vardır. (Chen ve ark., 2011).

Üretilen nanomalzemeler, en az 1 ile 100 nm arasında bir boyutta yeni malzemeler olarak tanımlanmaktadır (Masciangioli ve Zhang, 2003). Bu yeni materyaller küçük boyutlarından, şekillerinden, yüzey alanlarından, iletkenliklerinden veya yüzey kimyasallarından kaynaklanan benzersiz fiziksel veya kimyasal özelliklere sahip olacak şekilde üretilmiştir (Masciangioli ve Zhang, 2003; Oberdörster ve ark., 2005) ve tekstillerde, elektronik, mühendislik ve tıpta çok sayıda uygulama bulmuşlardır. (Masciangioli ve Zhang, 2003; Aitken ve ark., 2006).

Nanomateryallerin artan üretimi ve kullanımı, kaçınılmaz olarak, kasıtlı veya kazayla yayılımları veya bunları içeren ürünlerin aşınması yoluyla nanomateryallerin çevreye boşaltılması düzeylerini artıracaktır (Monfared ve Soltani, 2013). Üretim hacmindeki büyük artış ve yaygın kullanım nedeniyle, çevre ve insan sağlığı için potansiyel bir tehdit oluşturabilirler. Nanomalzemelerin kaynağı, boyutu ve materyal yönünden farklı olması nedeniyle, farklı biyolojik etkiler göstermeleri beklenir. (Ramesh ve ark., 2013).

Nanoteknolojinin hızlı bir şekilde genişlemesi, nano boyutlu malzemeler içeren ürün sayısında büyük bir artışa neden olmuştur. Bununla birlikte, nanopartiküllerin yeni fizikokimyasal özellikleri, insan sağlığının yanı sıra sudaki organizmalar üzerindeki potansiyel etkilerinin değerlendirilmesi gerekmektedir. Son zamanlarda, metal nanoparçacıkların üretimi çok artmıştır (Kumar, 2006). Bunun nedenlerinden biri, metal nanoparçacıkların yüksek talep görmesi, klorlu çözücüler ve böcek ilaçları gibi farklı tehlikeli malzemelerde kullanılmasından kaynaklanmaktadır (Kumar, 2006).

Metal oksit nanopartikülleri (NP), çeşitli ticari ürünlerde uygulanan en çok kullanılan mühendislik NP'leri arasındadır ve bu da potansiyel olarak insan ve çevre sağlığında olumsuz etkiler oluşturması endişelerine yol açmaktadır (Aschberger ve ark., 2011). NP'lerin benzersiz özellikleri, küçük boyutlu olmaları ve parçacıkların geniş yüzey alanından kaynaklanır, böylece elektronik, sağlık, kozmetik, teknoloji ve mühendislik endüstrilerindeki çok çeşitli yeni uygulamalar onları çekici kılmaktadır (Lecoanet ve Wiesner 2004; Sun ve ark. 2005). Metal oksit NP'lerinin kullanımının artması, bu parçacıkların su ortamına bırakılmasına neden olabilir. NP'lerin sudaki organizmalar üzerindeki olumsuz etkileri son zamanda dikkat çekmektedir (Blaise ve ark., 2008; Farre ve ark., 2009). NP'ler oksidatif hasar ve histopatolojik değişiklikler oluşturan etkilerinden sonra balıkların farklı dokularında birikebilir ve dağılabilir. Şimdiye kadar, balık dokularında metal oksit NP dağılımı üzerine süreye ve derişime bağlı etkiler ilgili çok az veri bulunmaktadır. Metal bazlı ve metal oksit esaslı NP'lerde toksisite, NP'lerin küçük boyut ve dolayısıyla yüksek yüzey aktivitesi ile ilgili spesifik özelliklerden kaynaklanırken, etkileri metal iyonlarının serbest bırakılmasıyla daha da artabilir (Auffan ve ark., 2009). Serbest metal iyonları orijinal parçacıklardan daha toksikse bu çözünme işlemi genel toksisitenin artmasına neden olabilir (Kool ve ark., 2011).

Metal oksit NP'leri yaşam döngüleri boyunca doğal suların içerisine sızabilir, ancak suya bırakılan ve su ortamlarında yaşayan organizmalara potansiyel toksik etkileri hakkında nispeten az bilgi bulunmaktadır (Paterson ve ark., 2011). Bu nedenle, metal oksit NP'lerin ekolojik riskleri hakkında daha fazla bilgiye gereksinim duyulmaktadır. (Jun ve ark., 2013). Üretilen nanopartiküllerin (NP) su ortamında ekotoksisitesi ile ilgili bilgiler son zamanlarda elde edilmekte ve elde edilen bu veriler genellikle suda yaşayan türler için öldürücü düzeylerin yüksek mg/L konsantrasyonlarında olduğu ve subletal etkilerin ise yaklaşık 1 mg / L veya daha düşük bir oranda olabileceğini göstermektedir. NP'lerin toksisitesi konusundaki endişeler, nano ölçekli özelliklerinden dolayı ortaya çıkmış olsa da

(Colvin, 2003), NP'lerin nano ölçekli özellikleri ile balıktaki toksikolojik tepkiler arasındaki ilişki henüz tam olarak bilinmemektedir (Petersen ve Henry, 2012).

Çinko oksit nanopartikülleri (ZnO NP) tipik metal oksit NP'lerdir ve yüksek stabilite, antikorozyon ve fotokatalitik özelliklerinden ötürü plastik, seramik, cam, çimento, kauçuk, yağlayıcılar, boyalar, pigmentler, gıdalar (Zn besin kaynağı), ve piller de geniş bir şekilde kullanılmaktadır (Osmond ve McCall, 2010). Buna ek olarak, ZnO NP'ler mükemmel UV absorpsiyonu ve yansıtıcı özelliklerinden dolayı (Ma ve ark., 2013), kozmetik ve güneşten koruyucu gibi kişisel bakım ürünlerinin ortak bileşenleridirler (Lee ve ark. 2014). ZnO NP'lerin sudaki ekosistemler ve organizmalar için önemli riskler oluşturabileceği ve diğer metal oksit NP'lere göre daha yüksek toksisiteye sahip olabileceği gösterilmiştir (Hao ve ark., 2013). ZnO NP'ler zehirli ve değişen biyokimyasal özelliklerinden dolayı, su ortamında bulunan en zararlı nano ürünlerden biri olarak sınıflandırılırlar (Kahru ve Dubourguier, 2010; Li ve ark., 2011). Zhu ve ark. (2008). ZnO NP'nin zebra balık embriyolarına TiO_2 NP ve Al_2O_3 NP'den daha yüksek akut toksisiteye sahip olduğu saptamışlardır.

Pérez ve ark. (2009) doğal ortamlarda ZnO NP'ler, 76 $\mu g/L$ 'ye konsantrasyonlara kadar ulaşabildiğini bildirmişlerdir. Yapılan çalışmalarda ZnO NP'nin etkisinde solungaçlarda ve karaciğerde nörotoksik etkiler ve histopatolojik değişiklikler gözlemlenmiştir (Hao ve ark., 2013; Xia ve ark., 2013; Miranda ve ark., 2016). “Nanoteknoloji Tüketici Ürünleri Envanteri” ne göre (Maynard ve Michelson 2006), ürün tanımlarında belirtilen en yaygın metal oksit NP malzemesi ZnO NP'lerdir. Bu ticari ürünlerden yaşam döngüsü boyunca, ZnO NP'ler çevreye salınabilir ve ekosistemler için tehdit oluşturabilir. Bununla birlikte, ZnO NP'lerin toksisitesi üzerine yapılan araştırmalar, organizmalara yönelik çevresel riskleri değerlendirmek için ekotoksikolojik verilere gereksinim vardır. Ek olarak, toplanmanın (kümeleşme) ve çözünmenin NP'lerin toksisitesi üzerindeki etkileri belirlenmemiştir (Hu ve ark., 2013).

Balıklar, omurgalılar arasında en çok çeşide sahip ve kirleticiler tarafından en çok tehdit edilen sucul biyotanın önemli bir grubudur (Duncan and Lockwood, 2001). Balıklar çevresel değişikliklere karşı çok duyarlıdır ve bu nedenle balıkların sağlık durumu su ekosisteminin durumunu yansıtmaktadır (Burkepile ve ark., 2000; Capkın ve ark., 2010). Balıklarda metal toksisitesinin hem kısa hem de uzun süreli etkilerini anlamak, su kalite kriterleri ve çevresel sağlık risk belirlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Van der Oost ve ark., 2003; Sanchez ve ark., 2008). *Oreochromis niloticus*, dünya çapında önemli bir ticari balıktır (El-Sayed, 2006). Ağır metallerin etkisinin değerlendirilmesinde biyo-gösterge bir organizma olarak kullanılmaktadır. Bunun nedeni bu türün ekonomik öneme sahip olması, kolay yetiştiriciliği ve laboratuvarındaki bakımının kolay olması, ayrıca farklı çevresel değişikliklere derhal tepki vermesidir (Abdel-Khalek ve ark., 2015). Bu nedenle, *O. niloticus*, toksikolojik araştırmalar için belirlenmiş bir model olarak kullanılması giderek artmaktadır (Almeida ve ark., 2002; Garcia-Santos ve ark., 2006).

Bazı metaller yaşam süreçleri için gereklidir ve çoğu organizma bu metalleri ortamdan alma ve biriktirme eğilimindedir. Balıklar, türün özellikleri, etkide kalma süresi, metalin konsantrasyonuna ve sıcaklık, tuzluluk, pH ve mevsimsel değişiklikler gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak çevredeki ağır metalleri absorbe etmekte ve biriktirmektedirler. Balıklarda biyoakümülyasyon süreçlerini etkileyen faktörlerin metal türleri, balık türleri ve doku tipleri olduğu belirlenmiştir (Lu ve ark., 2017). Temel olarak balıklar, metalleri sindirim sistemi ve solungaç yüzeyi olmak üzere iki alım yoluyla alırlar (Turkmen ve ark. 2009). Daha sonra metaller kan yoluyla karaciğer ve böbrek gibi diğer hedef organlara aktarılır (Nabavi ve ark., 2012). Genelde, karaciğer, böbrek, kas ve solungaç gibi dokular metallerin konsantrasyonunu belirlemek için analiz edilirler.

Solungaçlar, su ile doğrudan temastan dolayı çeşitli ksenobiyotikler için hassas ilk hedef dokudur (Felten ve ark., 2008). Solunum, asit-baz dengesi ve azotlu atıkların atılımı işlevlerine ilaveten, tatlı su balıklarının solungaçları,

homeostaz için uygun iç ortamı korumak için aktif olarak iyonları sudan almaktadır, ancak bu organdaki metal birikimi bu fonksiyonunu zayıflatabilir (Rogers ve ark., 2003). Solungaçlar, balık ile su arasındaki en önemli temas yeridir ve vücut yüzeyini kaplayan cilt alanından 10–60 kat daha büyük bir yüzey alanı kaplar (Parry, 1966). Solungaçların geniş yüzey alanı, onun gaz ve iyon değişimi süreçlerindeki rolünü yansıtır (Flik ve Verbost, 1993).

Karaciğer, genellikle, kemikli balıklarda hem solungaçlardan hem de bağırsaklarından gelen fazla Zn'yı detoksifiye eden ve depolayan önemli bir organdır ve yapılan çalışmalarda da Zn'un bu organda biriktiği bildirilmiştir (Kock ve Bucher 1997; Arellano ve ark., 1999; Blanchard ve Grosell 2005; Hattink ve ark. 2006). Balık karaciğeri, bağırsak epitelinden hepatik portal kan sistemine endositik taşınmayla giren NP'ler için muhtemel bir hedef organdır. (Karthigaranı ve Navaraj, 2012), Bu organlara ek olarak, Zn aynı zamanda balık böbreklerinde de yüksek düzeylerde birirmektedir (Sun and Jeng 1998; Hattink ve ark., 2006). Solungaçlardaki metallerin konsantrasyonları, balık türlerinin yaşadığı sulardaki metallerin konsantrasyonlarını yansıtırken, karaciğerdeki konsantrasyonlar metallerin depolanmasını temsil etmektedir.

NP'ler oksidatif hasar ve histopatolojik değişiklikler oluşturan etkilerinin yanı sıra balıkların farklı dokularında birikebilir ve dağılabilir. Balık dokularında süre ve derişime bağlı metal oksit NP'lerin birikimi ilgili şimdiye kadar çok az çalışma bulunmaktadır. Metal bazlı ve metal oksit esaslı NP'lerde toksisite, NP'lerin küçük boyut ve dolayısıyla yüksek yüzey aktivitesi ile ilgili spesifik özelliklerden kaynaklanırken, birikimleri; nanopartiküllerden metal iyonlarının serbest bırakılmasıyla daha da artabildiği belirtilmiştir (Auffan ve ark., 2009).

Metal oksit nanopartiküllerinin balık dokularında birikimi ile ilgili yapılan araştırmalar çok azdır. Bu nedenle bu araştırmada çinko oksit nanopartiküllerinin ve çinko sülfatın farklı süre ve derişimlerin etkisinde *O. niloticus*'un, böbrek,

solungaç, karaciğer ve kas dokularında çinko birikiminin karşılaştırmalı olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Thomas ve ark. (1985), *Salmo gairdneri*'de dokularda kadmiyumun birikimi ile ilgili yaptıkları bir araştırmada kadmiyumun % 99'unun böbrek, karaciğer ve solungaç gibi metabolik olarak aktif dokularda biriktiğini saptamışlardır.

Brown ve ark. (1986), *Rutilus rutilus*, *S. gairdneri* ve *Noemacheilus barbatulus* gibi çeşitli balık türlerinde kadmiyumun toksik etkisi ve dokularda birikimi ile ilgili yapılan bir araştırmada kadmiyum birikiminin böbrek, karaciğer ve solungaç gibi dokularda yüksek düzeyde biriktiğini belirtmişlerdir.

Tulasi ve ark. (1992), Pb'nin *Anabas testudineus* 'un dokularında birikimi üzerine yapılan bir çalışmada deneylerin sona erdirildiği 30. günde kurşun birikiminin en fazla böbrek dokusunda olduğu, bunu solungaç, karaciğer ve kas dokusunun izlediğini bildirmişlerdir

Mazon ve Fernandes, (1999). *Prochilodus scrofa*'da bakır birikimi ile ilgili yaptıkları çalışmada, 25 ve 29 µg/L Cu'ye 96 saat maruz bırakılan balıkların karaciğer, bağırsak, böbrekler ve solungaçlarında bakır birikiminin arttığı ve kontrol balıklarından anlamlı derecede yüksek olduğunu, kas dokusunda bakır birikiminin olmadığını belirlemişlerdir. Bakır birikimi diğer dokulara kıyasla karaciğerde en fazla olduğu ve onu bağırsak ve böbreğin izlediğini saptamışlardır.

Hollis ve ark. (2001), kadmiyumun farklı derişimlerinin etkisine 30 gün süre ile bırakılan *Oncorhynchus mykiss*'de dokularda Cd birikiminin olduğu ve en yüksek birikimin böbrek dokusunda olduğunu, bunu solungaç, karaciğer ve diğer dokuların izlediğini belirtmişlerdir.

Kirby ve ark. (2001), *Mugil cephalus*'da Cd, Cu, Zn, gibi metallerin birikimi ile ilgili yaptıkları bir çalışmada Cd, Cu ve Zn'nin karaciğerde yüksek düzeyde biriktiğini, kas dokusunda ise birikimin çok az olduğunu belirtmişlerdir

Federici ve ark., (2007) titanyum dioksit nanopartiküllerinin farklı derişimlerinin etkisine 14 gün süreyle bıraktıkları *O. mykiss*'in dokularındaki

titanyum birikimi üzerine yaptıkları çalışmalarında karaciğer dokusunda denenen tüm derişimlerde birikim olurken, solungaç ve kas dokusunda tüm derişimlerde herhangi bir birikimin olmadığını belirtmişlerdir.

Griffitt ve ark., (2007). Zebra balıkları (*Danio rerio*) ile yaptıkları bir çalışmada solungaçların Cu-NP'lerin oluşturduğu toksisitenin birincil hedefi olduğunu ve Cu-NP'lerin genç zebra balığı için çözünmüş Cu'dan daha akut toksik olduğunu bildirmişlerdir.

Zhang ve Wang (2007). Zn etkisine bırakılan *Acanthopagrus schlegeli* balığının gastrointestinal sisteminde Zn birikiminin arttığını bildirmişlerdir.

Heinlaan ve ark. (2008). 50 ve 100 mg / L ZnO NP'ye 96 saat maruz bıraktıkları zebra balığı embriyolarını öldüğü ve 1 ila 25 mg / L arasındaki konsantrasyonlarda ise hasarlara neden olduğunu bildirmişlerdir.

Zhu ve ark. (2008) ZnO NP'lerinin zebra balık embriyolarına TiO₂ NP ve Al₂O₃ NP'lerden daha yüksek akut toksisiteye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Hao ve Chen, (2012). ZnO NP'in üç farklı derişimlerinin etkisine bıraktıkları *Cyprinus carpio*'da ZnO NP'lerin balıklarda ölüme neden olmadığı belirlenmiş, bu da ZnO NP'nun sazanlar için ölümcül veya toksik olmadığını göstermektedir.

Shaw ve ark., (2012). *O. mykiss* ile yaptıkları bir çalışmada CuO NP'ye göre solungaçlarda daha yüksek konsantrasyonlarda CuSO₄ birikimi olduğunu saptamışlardır. Buna göre, CuO NP ve CuSO₄'e maruz bırakılan gökkuşığı alabalığındaki solungaçlarda Cu birikimi, yalnızca çözünen formun (CuSO₄) varlığında istatistiksel olarak anlamlı olduğunu bildirmişlerdir.

Al-Bairuty ve ark., (2013) 10 günlük süreyle 20 ve 100 µg/L Cu NP ve 20 µg/L CuSO₄ derişimlerinin etkisinde *O. mykiss*'in dokularında Cu birikimini belirlemek üzere yaptıkları bir araştırmada solungaç dokusunda denenen tüm derişimlerde ve karaciğer dokusunda ise sadece 20 µg/L CuSO₄ etkisinde bakır birikiminde artış olurken kas dokusunda herhangi bir birikimin olmadığını belirtmişlerdir.

Hao ve ark., (2013) *C. carpio* i ile yaptıkları bir çalışmada ZnO NP'lerinin ve ZnSO₄'ın 50 mg/L'lik derişiminin 30 günlük süreyle etkisinde her iki çinko forumunda da solungaç ve karaciğerde çinko birikiminin arttığı, en fazla birikimin solungaç ve karaciğerde olduğunu ve kas dokusunda ise birikimin olmadığını belirtmişlerdir.

Riberio ve ark. (2014). *Prochilodus lineatus*'ta Pb birikimi ile ilgili yaptıkları bir araştırmada ilk 6 saatte kurşun birikimi en fazla böbrekte olmuş bunu solungaçlar, karaciğer ve kas dokusu izlediğini belirlemişlerdir. Bu sıralamanın diğer tüm deney sürelerinde hemen hemen aynı kaldığını belirtmişlerdir.

Wang ve ark. (2015). Cu-NPs ve CuSO₄'ün etkisine 25 gün süreyle bıraktıkları juvenil *Epinephelus coioides*' lerde solungaçlarda yüksek konsantrasyonda bakır biriktiğini ve solungaç dokusu bakırı almada önemli bir organ olduğunu belirtmişlerdir.

Lakani ve ark., (2016) *Acipenser baerii*'de Cu NP'nin birikimi ile ilgili yaptıkları bir çalışmada Cu NP'nin farklı derişimlerinin 7 ve 14 gün süreyle etkisinde solungaç, karaciğer, barsak ve kas dokularında bakır birikimi artış göstermiş ve en fazla birikim barsak dokusunda olmuş, bunu solungaç, karaciğer ve kas dokusu izlediğini belirtmişlerdir.



3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Çukurova Üniversitesi Su ürünleri Fakültesinden alınan *O. niloticus* balıkları Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Ekofizyoloji laboratuvarına getirilmiş ve her biri 40x120x40 cm boyutlarındaki stok akvaryumlar içerisinde 2 ay süreyle laboratuvar ortam koşullarına adaptasyonları sağlanmıştır. Bu süre sonunda deneyde kullanılan balıklar 18.50 ± 1.32 cm boy ve 90.25 ± 4.55 g ağırlığa ulaşmışlardır.

Deneyler 25 ± 1 °C sıcaklıkta yürütülmüş, akvaryumlar merkezi havalandırma sistemi ile havalandırılmış ve günde 12 saat aydınlanma, 12 saat karanlık periyodu uygulanmıştır. Balıklar, günde iki kez olmak üzere balık ağırlığının % 2'i kadar hazır balık yemi (Pınar Balık Yemi, Türkiye) ile beslenmişlerdir.

Deney süresince adsorbsiyon ve evaporasyon gibi nedenlerle çinko çözeltileri her gün taze olarak hazırlanan stok çözeltilerinden uygun seyreltmeler yapılarak değiştirilmiştir. Deney süresince ortam suyunun bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri aşağıda verilmiştir.

Sıcaklık (Akvaryum): 24 ± 1.0 °C

Toplam sertlik: 265.53 ± 0.410 ppm CaCO_3

pH: 7.8 ± 0.05

Çözünmüş Oksijen: 6.85 ± 0.07 mg/ L

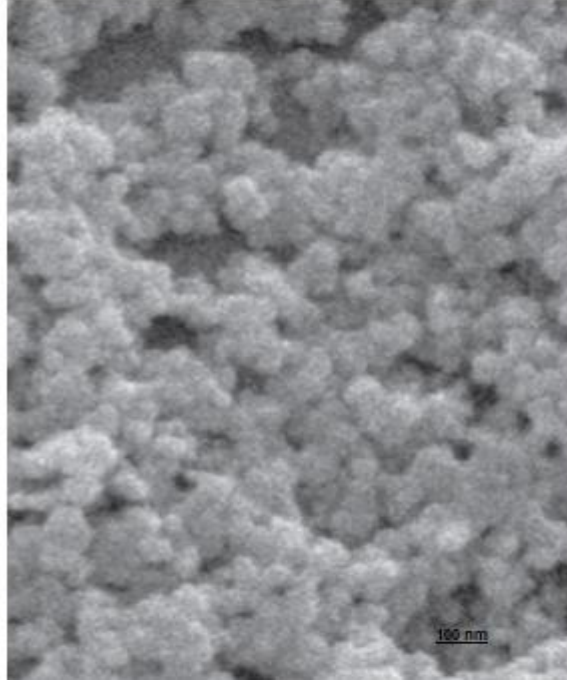
Metal olarak çinko oksit nanopartikülü (ZnO NP) partikül büyüklüğü 100 nm'den küçük anatase formu (Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Deneyler için ZnO NP her gün taze stok solüsyon şeklinde hazırlanmıştır. Stok solüsyonda ultra saf su ($18 \text{ M}\Omega/\text{cm}$) kullanılarak vorteks ile 6 saat karıştırılarak çözündürülmüştür.

Örneklerin NP boyutu ve yüzey yükünün belirlenmesi için analizi yapılmış ve karakteristik özellikleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile stok solüsyon ve yüksek doz ZnO NP 5.0 mg/L etkisindeki akvaryum çözeltisinden belirlenmiştir (Çizelge 3.1). Şekil 3.1.'de stok solüsyonun SEM görüntüsü verilmiştir.

Çizelge 3.1. ZnO NP'nin taramalı elektron mikroskop (SEM) ölçüm sonuçları

Partikül karakterleri	Method	Mili-Q Saf Su	Çeşme Suyu
Büyüklik (nm)	TEM	<100nm*	
Partikül Büyüklik Ayrımı (nm)	SEM	85.5±7.3	11±8,7

*sigma aldrich katalogundaki ZnO NP değeri



Şekil 3.1. ZnO NP'nin taramalı elektron mikroskop görüntüsü

Deneyler, ZnO NP ve ZnSO₄ dikkate alınarak iki seri olarak yürütülmüştür. Balıklar birinci seride ZnO NP'nin 0.5, 2.5 ve 5.0 mg/L derişimlerine, ikinci seride ZnSO₄' un 0.5, 2.5 ve 5.0 mg/L ortam derişimlerinin etkisine 3 ve 15 gün sürelerle bırakılmıştır.

Deneylerde 40X120X40 cm. boyutlarında olan 7 cam akvaryum kullanılmıştır. Her bir akvaryuma 12 balık konulmuş, toplamda 84 balık kullanılmıştır. Birinci seride bu akvaryumlardan üçüne 120'şer litre 0.5, 2.5 ve 5.0 mg/L ZnO NP çözeltileri, ikinci serideki akvaryumlardan üçüne ZnSO₄'ın 0.5, 2.5 ve 5.0 mg/L lik çözeltilerinden 120'şer litre konulmuştur. Yedinci akvaryuma ise metal içermeyen çeşme suyu konulup kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Deneyler üç tekrarlı olarak yürütülmüştür ve her tekrarda iki balık kullanılmıştır. Deney çözeltilerinin hazırlanmasında çinko sülfat (Sigma Aldrich, ZnSO₄·5H₂O) ve çinko oksit nanopartikülü (Sigma-Aldrich; ZnO; partikül boyutu <100 nm) kullanılmıştır

Belirlenen her sürenin sonunda balıklar çeşme suyu ile iyice yıkanmış ve kurutma kâğıdı ile yüzeylerinde bulunan su damlacıkları alınmıştır. Balıklarda karaciğer, böbrek, solungaç ve kas dokuları disekte edilmiştir.

3.2. Metod

Çinko analizleri için dokular petri kabına aktararak etüvde 150°C de 48 saat süreyle kurumaya bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda kuru ağırlıkları belirlenen dokular deney tüplerine aktararak 2 mL nitrik asit (Merck, %65, d:1.40) ve 1 mL perklorik asit (Merck, %60, d:1.53) eklenerek 3 saat süreyle yakılmıştır. Yakım işlemi tamamlanan örnekler polietilen tüplere aktarılmış, saf su ile 5 mL ye tamamlanarak çinko analizi için hazır hale getirilmiştir. Doku ve organlardaki çinko analizi Perkin Elmer marka Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi ile yapılmıştır.

3.2.1. İstatistik

Deneylerden elde edilen verilerin istatistik analizleri “ Regresyon analizi” ve “Student-Newman Keul’s Test (SNK)” testleri SPSS 21 paket programı uygulanarak yapılmıştır.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

Bu çalışmada; ZnO NP ve ZnSO₄ etkisine 3 ve 15 gün sürelerle bırakılan *O. niloticus*'un karaciğer, böbrek, solungaç ve kas dokularında çinko birikiminin belirlenmesi araştırılmıştır.

O. niloticus 'da belirlenen derişim ve sürelerde bir doku için üç tekrarlı olarak saptanan çinko düzeylerinin aritmetik ortalamaları ve standart hataları çizelge 4.1-4'de verilmiştir. Belirli bir süre sonunda artan derişimin bir doku ve organdaki çinko birikimine etkisini belirlemek ve belirli bir derişimde sürenin bir doku ve organdaki çinko birikimine etkisini belirlemek amacı ile veriler SNK testi (Student Newman Keul's Test) ile analiz edilmiş ve sonuçlar çizelge 4.1-4'de verilmiştir. Bu çizelgelerde a, b, c ve d harfleri derişimlerin etkisini göstermek, x ve y harfleri ise sürenin etkisini göstermek amacıyla kullanılmıştır. Çizelgelerde farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Karaciğer dokusunda ZnO NP etkisindeki Zn birikimi tüm derişim (0.5 mg/L ZnO NP hariç) ve sürelerde kontrole oranla artış göstermiştir (Çizelge 4.1.; $P<0.05$). 3 ve 15 günlük etki sürelerinde derişimdeki artışa paralel olarak çinko birikiminin de artış gösterdiği belirlenmiştir ($P<0.05$). Her iki etki süresinde de 5.0 mg/L'lik derişimde bulunan balıkların karaciğerindeki çinko birikiminin 0.5 ve 2.5 mg/L'lik derişimlerde bulunanlara oranla daha fazla olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$).

ZnSO₄ etkisinde karaciğer dokusundaki Zn birikimi, 0.5 mg/L ZnO NP hariç tüm derişim ve sürelerde kontrole oranla artış göstermiştir ($P<0.05$). 3 ve 15 günlük etki süresinde 5.0 mg/L'lik derişimde 0.5 ve 2.5 mg/L'lik derişimlere oranla birikimin daha yüksek olduğu saptanmıştır ($P<0.05$). ZnSO₄ etkisinde kalan balıkların karaciğerindeki Zn birikimi ZnO NP etkisinde kalan balıklara oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Belirli bir ortam derişiminde etkide kalınan sürenin uzamasıyla hem ZnO NP ve hemde ZnSO₄ etkisinde kalan balıkların karaciğerinde Zn birikiminin arttığı belirlenmiştir. (Çizelge 4.1; SNK; P<0.05).

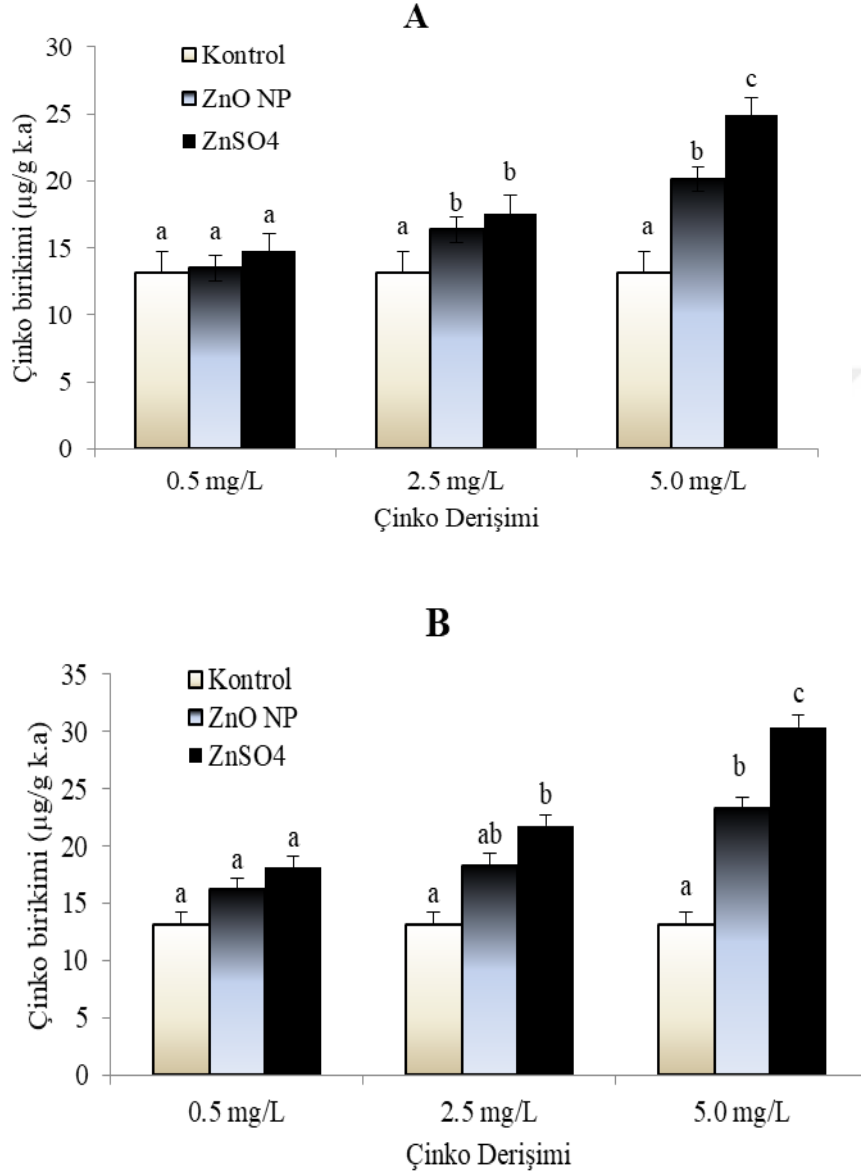
Çizelge 4.1. ZnO NP ve ZnSO₄'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da karaciğer dokusunda çinko birikimi ((µg/g k.a.).

Derişim (mg/L)	Süre (Gün)			
	3		15	
Kontrol	13.19±0.74	ax	13.19±0.74	ax
0.5 ZnO NP	13.56±1.46	ax	16.19±0.58	by
2.5 ZnO NP	16.42±1.19	bx	18.33±1.91	by
5.0 ZnO NP	20.18±1.59	cx	23.28±1.43	cx
Kontrol	13.19±0.74	ax	13.19±0.74	ax
0.5 ZnSO ₄	14.78±0.97	ax	18.13±1.45	by
2.5 ZnSO ₄	17.60±1.21	bx	21.78±0.65	by
5.0 ZnSO ₄	24.92±0.81	cx	30.42±3.78	cy

SNK; a, b ve c harfler derişimler arası x ve y harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P < 0.05).

$\bar{X} \pm s\bar{x}$: Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata

ZnO NP ve ZnSO₄'ın karaciğer dokusundaki birikimleri kıyaslandığında, 0.5 ve 2.5 mg/L'lik derişimlerde 3 ve 15. günlerde herhangi bir farklılık gözlenmezken (Şekil 4.1.; P>0.05), 5.0 mg/L'lik derişimde her iki etki süresinde de Zn SO₄'ün etkisindeki balıkların karaciğerindeki çinko birikimi ZnO NP'ün etkisine bırakılan balıklara oranla daha fazla olmuştur (P<0.05).



Şekil 4.1. ZnO NP ve ZnSO₄'ün etkisine 3 (A) ve 15 (B) günlük sürelerle bırakılan *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda çinko birikiminin karşılaştırılması (µg Zn/g k.a.). Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P < 0.05).

Böbrek dokusunda ZnO NP etkisindeki Zn birikimi tüm derişim ve sürelerde kontrole oranla artış göstermiştir (Çizelge 4.2.; $P<0.05$). Her iki etki süresinde derişimdeki artışa paralel olarak çinko birikiminin artış gösterdiği ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P<0.05$). En yüksek çinko birikimi her iki etki süresinde de 5.0 mg/L'lik derişimde olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$).

ZnSO₄ etkisinde böbrek dokusundaki Zn birikimi, tüm derişim ve sürelerde kontrole oranla arttığı belirlenmiştir ($P<0.05$). 3 ve 15 günlük etki süresinde derişimler arasında çinko birikimi bakımından istatistiksel olarak önemli farklılıklar olduğu belirlemiştir. 5.0 mg/L'lik derişimde 0.5 ve 2.5 mg/L'lik derişimlere oranla birikimin daha fazla olduğu saptanmıştır ($P<0.05$). Denenen tüm derişimlerde ZnSO₄ etkisinde böbrek dokusundaki Zn birikimi ZnO NP etkisinde kalanlara oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Belirli bir ortam derişiminde etkide kalınan sürenin uzamasıyla ZnO NP etkisinde kalan balıkların böbrek dokusunda Zn birikiminin arttığı belirlenmiştir. (Çizelge 4.2; SNK; $P<0.05$). 0.5 mg/L ZnSO₄ etkisinde 3. güne oranla 15. günde böbrek dokusunda çinko birikiminin arttığı belirlenmiştir.

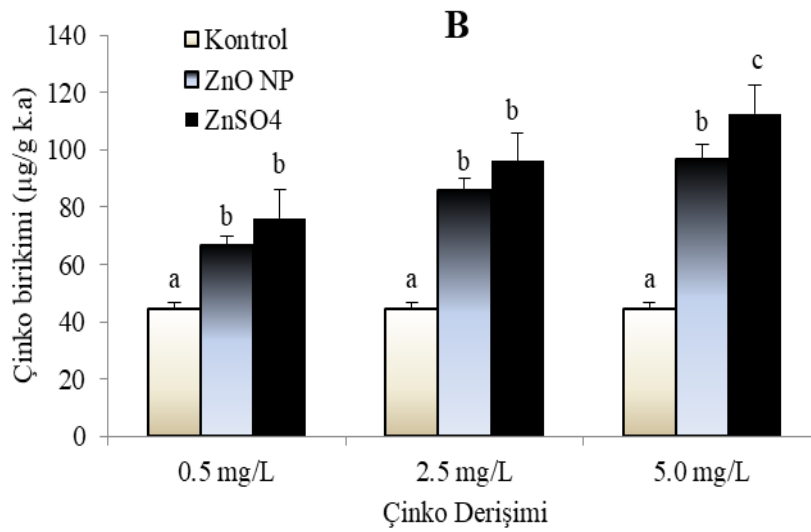
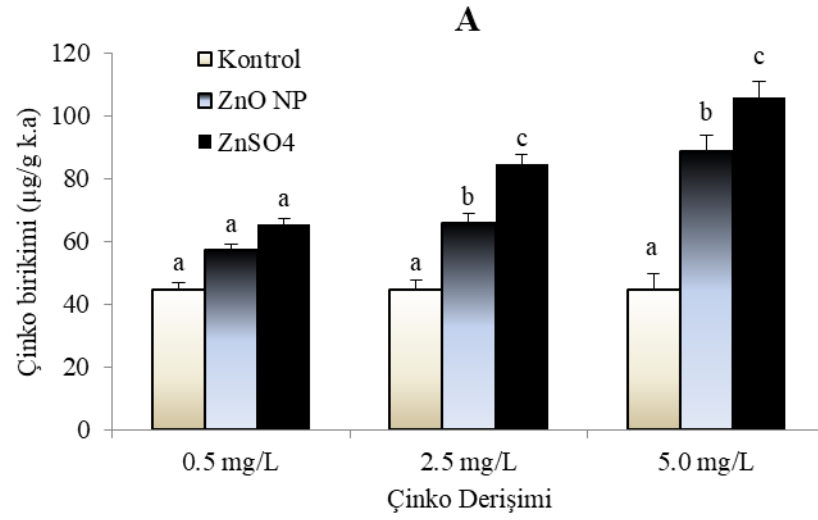
Çizelge 4.2. ZnO NP ve ZnSO₄'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da böbrek dokusunda çinko birikimi ((µg/g k.a.).

Derişim (mg/L)	Süre (Gün)			
	3		15	
Kontrol	44.71±2.90	ax	44.71±2.90	ax
0.5 ZnO NP	57.10±1.63	bx	66.55±3.17	by
2.5 ZnO NP	65.77±0.27	cx	85.71±12.30	cy
5.0 ZnO NP	88.72±4.71	dx	96.91±6.32	cy
Kontrol	44.71±2.90	ax	44.71±2.90	ax
0.5 ZnSO ₄	65.17±7.34	bx	76.17±3.32	by
2.5 ZnSO ₄	84.46±11.92	cx	96.06±4.68	cx
5.0 ZnSO ₄	105.67±.57	dx	112.6±0.88	dx

SNK; a, b, c ve d harfler derişimler arası x ve y harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P < 0.05).

$\bar{X} \pm s\bar{x}$: Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata

ZnO NP ve ZnSO₄'ın böbrek dokusundaki birikimleri kıyaslandığında, 0.5 mg/L'lik derişimde 3 ve 15. günlerde herhangi bir farklılık gözlenmezken (Şekil 4.2.; P>0.05), 2.5 ve 5.0 mg/L'lik derişimde 3 günlük etki süresinde Zn SO₄'ün etkisinde kalan balıkların böbrek dokusundaki birikim ZnO NP'ün etkisinde kalan balıklardaki çinko birikimine oranla daha fazla olmuştur (P<0.05). 5.0 mg/L'lik derişimde 15 günlük etki süresinde Zn SO₄'deki birikim ZnO NP'deki çinko birikimine oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir (P<0.05).



Şekil 4.2. ZnO NP ve ZnSO₄'ün etkisine 3 (A) ve 15 (B) günlük sürelerle bırakılan *O. niloticus*'un böbrek dokusunda çinko birikiminin karşılaştırılması (µg Zn/g k.a.). Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P < 0.05$).

Denenen tüm derişim ve sürelerde ZnO NP etkisine bırakılan balıkların solungaç dokusunda Zn birikimi kontrole oranla artış göstermiştir (Çizelge 4.3.; $P<0.05$). Hem 3 hem de 15 günlük etki süresinde ZnO NP derişimindeki artışa paralel olarak çinko birikiminin istatiksel olarak önemli bir artış gösterdiği belirlenmiştir ($P<0.05$). Her iki etki süresinde de en yüksek çinko birikiminin en yüksek ZnO NP derişiminde olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$).

ZnSO₄ etkisinde solungaç dokusundaki Zn birikimi, denenen tüm derişim ve sürelerde kontrole oranla artış gösterdiği belirlenmiştir ($P<0.05$). Her iki etki süresinde de derişimdeki artışa paralel olarak çinko birikiminin artış gösterdiği ve bu artışın istatiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır. Denenen sürelerde 5.0 mg/L'lik derişimin etkisinde kalan balıklarda 0.5 ve 2.5 mg/L'lik derişimlerde kalanlara oranla çinko birikiminin daha fazla olduğu saptanmıştır ($P<0.05$). Denenen tüm derişimlerde ZnSO₄ etkisinde solungaç dokusundaki Zn birikimi ZnO NP etkisindeki balıklara oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Yüksek ortam derişimlerin de etkide kalınan sürenin uzamasıyla hem ZnO NP ve hemde ZnSO₄ etkisinde kalan balıkların solungaç dokusunda Zn birikiminin arttığı belirlenmiştir. (Çizelge 4.3; SNK; $P<0.05$).

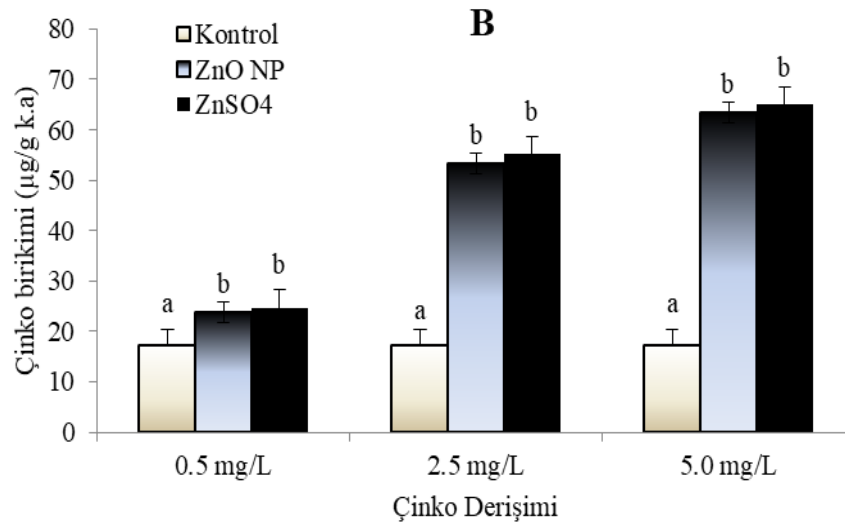
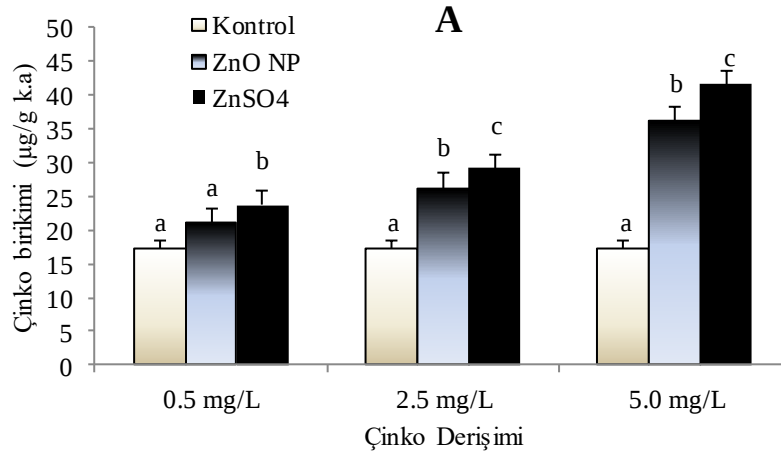
Çizelge 4.3. ZnO NP ve ZnSO₄'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da solungaç dokusunda çinko birikimi ((µg/g k.a.).

Derişim (mg/L)	Süre (Gün)			
	3		15	
Kontrol	17.34±1.95	ax	17.34±1.95	ax
0.5 ZnO NP	21.09±1.39	bx	23.85±1.96	bx
2.5 ZnO NP	26.27±0.77	cx	53.30±0.99	cy
5.0 ZnO NP	36.18±2.83	dx	63.38±2.93	dy
Kontrol	17.34±1.95	ax	17.34±1.95	ax
0.5 ZnSO ₄	23.72±2.37	bx	24.75±2.24	bx
2.5 ZnSO ₄	29.21±0.90	cx	55.10±4.75	cy
5.0 ZnSO ₄	41.61±1.61	dx	65.05±11.87	dy

SNK; a, b, c ve d harfler derişimler arası x ve y harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P < 0.05$).

$\bar{X} \pm s\bar{x}$: Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata

ZnO NP ve ZnSO₄'ın solungaç dokusundaki birikimleri kıyaslandığında, 0.5 mg/L'lik derişimde denenen her iki sürede de herhangi bir farklılık gözlenmezken (Şekil 4.3.; $P > 0.05$), 2.5 ve 5.0 mg/L'lik derişimde 3 günlük etki süresinde Zn SO₄'ün etkisinde kalan balıkların solungaç dokusundaki birikim ZnO NP'ün etkisinde kalan balıklardaki çinko birikimine oranla daha fazla olmuştur ($P < 0.05$). 2.5 ve 5.0 mg/L'lik derişimlerde 15 günlük etki süresinde Zn SO₄ ile ZnO NP çinko birikimi bakımından bir istatistik ayrım göstermemiştir ($P > 0.05$).



Şekil 4.3. ZnO NP ve ZnSO₄'ün etkisine 3 (A) ve 15 (B) günlük sürelerle bırakılan *O. niloticus*'un solungaç dokusunda çinko birikiminin karşılaştırılması (µg Zn/g k.a.). Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P < 0.05$).

Denenen tüm derişim ve sürelerde ZnNP etkisine bırakılan balıkların kas dokusunda Zn birikimi kontrole oranla artış göstermiştir (Çizelge 4.4.; $P<0.05$). Her iki etki süresinde de ZnO NP ortam derişimlerindeki artışa paralel olarak kas dokusu çinko birikiminin önemli artış gösterdiği ve bu artışın istatiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Derişimleri kıyasladığımızda her iki etki süresinde de en yüksek çinko birikiminin 5.0 mg/L ZnO NP ortam derişiminde olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$).

Kas dokusu Zn birikimi, denenen her iki sürede ve tüm $ZnSO_4$ derişimlerinde kontrole oranla artış gösterdiği belirlenmiştir ($P<0.05$). 3 ve 15 günlük etki sürelerinde derişim artışına paralel olarak çinko birikiminin arttığı ve bu artışın istatiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır. Çalışılan her iki sürede de 5.0 mg/L'lik derişimin etkisinde kalan balıklardaki çinko birikiminin diğer derişimlerin etkisinde kalanlara oranla daha fazla olduğu saptanmıştır ($P<0.05$). Denenen tüm derişimlerde $ZnSO_4$ etkisinde kas dokusundaki Zn birikimi ZnO NP etkisindeki balıklara oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Belirli bir ortam derişiminde etkide kalınan sürenin uzamasıyla hem ZnO NP ve hemde $ZnSO_4$ etkisinde kalan balıkların kas dokusunda Zn birikiminin arttığı ancak bu artışın (0.5 mg/L ZnO NP hariç) istatiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir. (Çizelge 4.4; SNK; $P>0.05$).

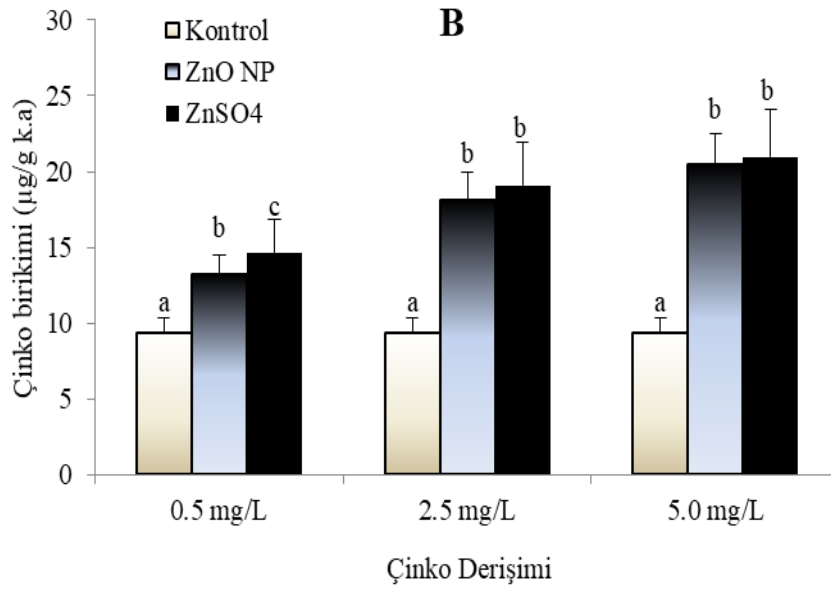
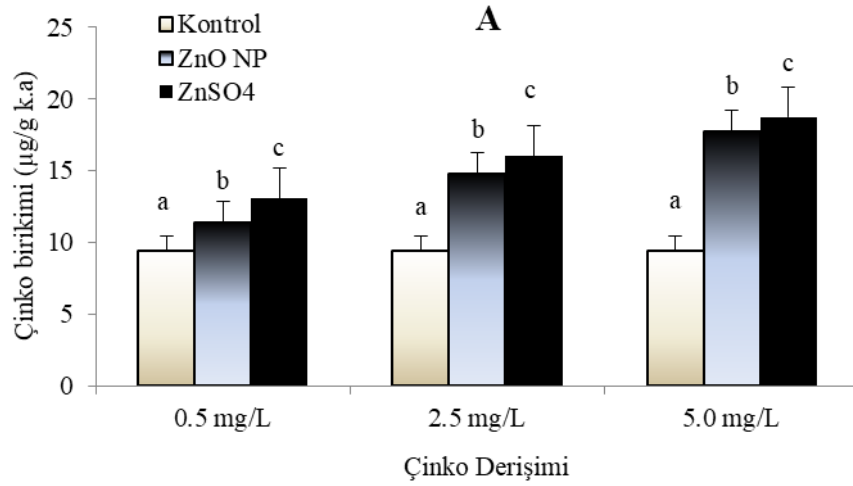
Çizelge 4.4. ZnO NP ve ZnSO₄'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da kas dokusunda çinko birikimi ((µg/g k.a.).

Derişim (mg/L)	Süre (Gün)			
	3		15	
KAS				
Kontrol	9.39±0.17	ax	9.39±0.17	ax
0.5 ZnO NP	11.34±0.29	bx	13.04±0.43	by
2.5 ZnO NP	14.75±0.16	cx	15.99±0.18	cx
5.0 ZnO NP	17.69±0.34	dx	18.73±0.59	dx
Kontrol	9.39±0.17	ax	9.39±0.17	ax
0.5 ZnSO ₄	13.20±0.28	bx	14.67±0.18	bx
2.5 ZnSO ₄	18.13±0.83	cx	19.09±0.38	cx
5.0 ZnSO ₄	20.48±0.12	dx	20.97±0.46	dx

SNK; a, b, c ve d harfler derişimler arası x ve y harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P < 0.05).

$\bar{X} \pm s\bar{x}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

ZnO NP ve ZnSO₄'ın kas dokusundaki birikimleri kıyaslandığında, 3. günde denenen tüm derişimlerde Zn SO₄'ün etkisinde kalan balıkların kas dokusundaki birikim ZnO NP'ün etkisinde kalan balıklardaki çinko birikimine oranla daha fazla olduğu ve istatistiksel olarak ayrım gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.4.; P<0.05) 15 günlük etki süresinde denenen tüm derişimlerde Zn SO₄ ile ZnO NP çinko birikimi bakımından bir istatistik ayrım göstermemiştir (P>0.05).



Şekil 4.4. ZnO NP ve ZnSO₄'ün etkisine 3 (A) ve 15 (B) günlük sürelerle bırakılan *O. niloticus*'un kas dokusunda çinko birikiminin karşılaştırılması (µg Zn/g k.a.). Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P < 0.05$).

3 ve 15 günlük süreler sonunda hem ZnO NP ve hemde ZnSO₄'ün belirli bir ortam derişimi dikkate alındığında çinko birikimi bakımından dokular arasında da önemli farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Çinko birikimi en fazla böbrek dokusunda olmuş, bunu solungaç, karaciğer ve kas dokusu izlemiştir. 15 günlük süre sonunda 5.0 mg/L hem ZnO NP ve hemde ZnSO₄'ün etkisindeki balıkların böbrek dokusundaki çinko birikimi, kas dokusundaki birikimin yaklaşık olarak 3 katı kadar olduğu saptanmıştır.

4.2. Tartışma

Ağır metaller su ortamında çok düşük düzeylerde bulunurlar. Eser düzeylerde hemen tüm su organizmalarının gereksinim gösterdiği çinko yüksek derişimlerde ise toksik etki yapmaktadır (Kargın ve Erdem, 1992). Ağır metallerin toksik etkileri, fiziksel ve kimyasal faktörler (sıcaklık, çözünmüş oksijen), dokuların moleküler bileşenleri (-SH grupları, lipid, nükleik asit) ve metalin boyutu ve biçimine bağlı olarak değişim göstermektedir (Kargın ve Erdem, 1992; Handy ve ark., 2008). Tüm nanopartiküller çok küçük bir boyuta (<0.1 µm çapında) sahip olduğundan, kolayca çevreyi kirletirler ve insanlar ve su organizmaları için bir tehlike oluşturabilirler (Griffitt ve ark., 2007; Lanone ve ark., 2009). Bystrzejewska ve ark. (2009), nanopartiküllerin membranlara bağlanabileceğini ve hücresel fonksiyonları bozabileceğini veya depolanarak hücresel fonksiyonları bozabileceğini belirtmişlerdir (Priya ve ark., 2015). Balıklarda ve omurgasız hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda metal oksit nanopartiküller için akut letal konsantrasyonların genelde µg/L den ziyade mg/L düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Metal oksit nanopartiküller oldukça az çözünürler ve düşük toksisite gösterirler (Shaw ve Handy, 2011). Yüksek derişimlerde ZnO NP akuatik organizmalarda toksik etki yapmaktadır. ZnO NP'lerin toksik mekanizması esas olarak ZnO NP'ler ve biyomoleküller arasındaki etkileşime bağlıdır ve bunun sonucunda protein açılımı ve enzimatik aktivitede azalma meydana gelmektedir (Chang ve ark. 2012).

ZnO NP, solungaç epiteli boyunca hücrenin içine taşınabilir, dolaşım sistemine girdikten sonra, ZnO NP hayvanın vücudu boyunca dağılabilir ve organlarda veya dokularda toksisiteye neden olabilir (Dieni ve ark., 2014).

Çinko, balıklar için gerekli bir eser elementtir ve metabolizmanın çeşitli süreçlerinde önemli bir iz mineraldir (Chupania ve ark., 2018). Çinko diğer eser elementler gibi düşük miktarlarda tüm organizmalar için gerekli iken, derişimlerdeki artış sonucu toksik etki göstermektedirler. ZnO NP'in üç farklı derişimlerinin etkisine bırakılan *C. carpio*'da ZnO NP'in balıklarda ölüme neden olmadığı; bu da, ZnO NP'nun sazanlar için ölümcül veya toksik olmadığını göstermektedir (Hao ve Chen, 2012). *D. rerio* ile yapılan bir çalışmada ZnO NP'nin bu balıkta çok daha yüksek toksisite gösterdiği belirtilmiştir (Bai ve ark., 2010). Organizmaların metal oksit nanopartiküllerin neden olduğu strese tepkileri türlere göre değişmektedir (Bondarenko ve ark., 2013). Bu araştırmada deneylerin sona erdirildiği 15 günlük süre içerisinde denenen tüm ZnO NP ve ZnSO₄'ın ortam derişimlerinde balıklarda ölüm gözlenmemiştir. Zebra balıklarında (*D. rerio*) 50 mg/L TiO₂ NP ölçülebilir bir etki ve mortalite gözlenmezken, derişim artışıyla 300 mg/L'de mortalite gözlenmiştir (Xiong ve ark., 2011). Çalışmamızda en yüksek ortam derişimi olan 5.0 mg/L ZnO NP ve ZnSO₄'da ölüm gözlenmemiş olması ZnO NP ve ZnSO₄ metallerinin toksisitesinin düşük olması ve balıkların metali vücuttan atma kapasitesinin iyi olmasından kaynaklanmaktadır.

Bu çalışmada yüksek derişimlerinin etkisinde 15 günlük deney sırasında balıklarda beslenme davranışının önemli ölçüde etkilendiği, solungaçlarda aşırı mukus salgılanması ve yüzmede yavaşlama gibi davranış değişiklikleri görülmüştür. ZnO NP'nin 50.0 mg/L derişiminin etkisine bırakılan *C. carpio*' da balıkların normal davranış sergilemediği belirlenmiş, buna ek olarak, balıkların aşırı derecede mukus salgıladıkları saptanmıştır (Hao ve Chen, 2012).

Balıklar, su ortamlarının kalitesini ve kirleticilerin etkilerini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılırlar. Balıklardaki fizyolojik değişiklikler, çevresel kirlenmenin biyolojik belirleyicileri olarak hizmet eder ve

toksikolojik çalışmalarda sıkça kullanılmaktadır (Poopal ve ark. 2017). Balıklar, metaller ve metal nanopartiküller de dahil olmak üzere bir çok çevresel kirleticiyi vücutlarında biriktirmede güçlü bir potansiyele sahiptirler. Metal oksit nanopartiküller ve diğer metaller, balıklarda solungaç epiteli, sindirim sistemi ve deri olmak üzere üç bölgeden alınarak kan dolaşımıyla iç dokulara ulaşabilmekte ve bu dokularda birikebilmektedir (Handy ve ark. 2008; Hao ve ark., 2013). ZnO NP'leri, daha küçük boyutlu olmaları nedeniyle bağırsak duvarı boyunca daha kolay nüfuz eder ve kan dolaşımı ve difüzyon yoluyla diğer dokulara taşınır (Hao ve ark., 2013). Balıklar, metalleri bulundukları ortamdan absorbe edebilir ve daha sonra çeşitli dokularında ortamda bulunan düzeyin üzerinde önemli miktarlarda biriktirebilirler (Abdel-Khalek 2015).

Bu çalışmada ZnO NP ve ZnSO₄ etkisine bırakılan *O. niloticus*'un böbrek, karaciğer, solungaç ve kas dokularındaki çinko düzeyleri ortam derişimine ve etkide kalınan süreye bağlı olarak arttığı saptanmıştır. Balık dokularındaki metal birikiminin metallerin ve metal oksit nanopartiküllerinin derişimine, etkide kalınan süreye, suyun fiziksel ve kimyasal özelliklerine ve balıkların metabolizmasına bağlı olarak değişiklik gösterebildiği belirtilmektedir (Heath, 1995; Mansouri ve ark.,2016). Zn, Cd ve Zn+Cd karışımlarının etkisine 28 gün süreyle bırakılan *O. niloticus*'un farklı dokularındaki metal birikimi denenen tüm ortam derişimlerinde süre ve derşim artışıyla önemli bir şekilde artış gösterdiği saptanmıştır (Fırat ve ark., 2009). 20 gün süreyle CuO NP'nin farklı derişimlerinin etkisine bırakılan *C. carpio*'da karaciğer, solungaç ve kas dokularında bakır birikimi derişim artışına bağlı olarak önemli bir düzeyde artış göstermiştir (Mansouri ve ark.,2016).

Bu araştırmada ZnO NP ve ZnSO₄'ın tüm ortam derişimlerinin etkisinde ve denenen sürelerde *O. niloticus*'da çinko birikiminin en fazla böbrekte dokusunda olduğu ve bunu sırasıyla solungaç, karaciğer ve kas dokusunun izlediği saptanmıştır. Ağır metaller ve metal oksit nanopartiküllerin genelde böbrek, karaciğer ve solungaç gibi metaller için hedef olan dokularda birikmektedirler. Bu dokular, metal ve metal oksit nanopartiküllerin alınımı, depolanması ve

detoksifikasyon süreçlerinde önemli rol oynamaktadır ve metallothioneinler genelde bu dokularda oluşmaktadır (Palaniappan ve Karthikeyan 2009). Doku metabolizmasındaki farklılıklar metal birikiminde önemli rol oynar. Karaciğer ve böbrek gibi metabolik olarak aktif dokuların daha yüksek değerlerde metal biriktirme eğilimine sahiptirler. Solungaç ve bağırsak, metallerin alınımı ve diğer organlara taşınması için kullanılan organlardır; karaciğer ve böbrek metallerin detoksifikasyon ve elimine edilmesinde başlıca organlardır (De Boeck ve ark. 2004). Cu NP etkisine bırakılan *O. niloticus*'da Cu birikimi dokuya özgü karaciğer>böbrek>solungaç>kas şeklinde bir sıra izlemiştir (Abdel- Khalek ve ark. 2015). Karaciğer, böbrek ve solungaç gibi aktif metabolik organlar kas gibi diğer inaktif metabolik dokulardan daha fazla miktarda metal biriktirdikleri için birçok toksikolojik etkiye maruz kalmaktadırlar (Uysal ve ark. 2008).

Balıkların böbrekleri en fazla oranda kan alan bir dokudur; bu nedenle böbrek lezyonları çevre kirliliğinin iyi bir göstergesi olarak kabul edilir (Abdel- Khalek ve ark., 2015). Böbrek, su ve elektrolit dengesinde ve istikrarlı bir iç ortamın sürdürülmesinde de önemli bir rol oynamaktadır (Palaniappan ve ark., 2009) ve metaller için yüksek bir afiniteye sahip olan renal hücrelerde (Patel ve ark., 2006) sayısız kanallar, taşıma mekanizmaları ve enzimler bulunabilir. Böbrek, metal aksiyonlarına karşı koruyucu görev yapan metallothionein (MT) üretebilen yüksek metabolik aktif bir organdır (Cicik ve ark., 2004). Böbrek, atılım ve osmoregülasyonun temel bir organı olarak kabul edilir ve yüksek kan sağlama nedeniyle toksik maddelere karşı oldukça hassastır ve uygun işlevi homeostaziyi sürdürmektir (Shobana ve ark., 2018). Kemikli balıkların böbreklerinde metallerin birikimi hem alım hem de eliminasyon oranlarına bağlıdır. Cu böbrek tiyonin sentezi bağlı olarak böbrek dokusunda önemli bir birikim göstermiştir (Isani ve ark. 2013). Böbrekler, NP'leri biriktiren önemli bir organ olduğu bilinmektedir ve sığanlarda karaciğerden daha yüksek konsantrasyonları gösterdikleri belirtilmiştir (Loeschner ve ark., 2011).

Pb'nin etkisine farklı sürelerle bırakılan *P. lineatus* Pb düzeyleri, 6 saatlik maruz kalmanın ardından böbrek> solungaçlar> karaciğer> kan> kas şeklinde olup, diğer tüm deney sürelerinde de aynı kalmıştır. Pb etkisinin ilk saatlerinde, Pb'yi en yüksek miktarda biriktiren organ, toksik maddelerin atılmasında önemli bir rol oynayan böbrek dokusu olduğu belirtilmiştir (Riberio ve ark., 2014). Kadmiyumun farklı değişimlerinin etkisine bırakılan *Ictalurus punctatus* balıklarında böbrek ve karaciğerinde kadmiyum birikmiş ve böbrek dokusunda kadmiyum birikiminin daha yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır. Bu organlarda biriken kadmiyum miktarı etkide kalma süresinin uzamasıyla artmıştır. (Smith ve ark., 1976). CuO NP ve CuSO₄ 'ın etkisine bırakılan *O. mykiss* böbrek dokusunda tiyonin sentezine bağlı olarak önemli düzeyde bakır birikimi olduğu saptanmıştır (Isani ve ark., 2013). Ag NP farklı derişimlerinin etkisine bırakılan *Labeo rohita*'da Ag birikimi en fazla böbrek dokusunda olmuş, bunu karaciğer ve solungaç dokusu izlemiştir. Araştırmacılar balıkların dokularında gümüşün biyobirikiminin büyük olasılıkla Ag NP'lerin alımından ve serbest bırakılan gümüş iyonlarından kaynaklandığını belirtmişlerdir (Joo ve ark., 2013). *O. niloticus* ile yapılan bu araştırmada denenen tüm ZnO NP ve ZnSO₄ ortam derişimlerinde böbrek dokusu Zn birikimi diğer dokulara oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Derişim artışına ve sürenin uzamasına bağlı olarak çinko birikimindeki artış daha fazla olmuştur. Hem ZnO NP ve hemde ZnSO₄ 'ün etkisinde 15 günlük sürede ortam derişimindeki 10 katlık bir artış böbrek dokusundaki çinko birikiminde yaklaşık 1.5 katlık bir artışa neden olmuştur. Böbrek dokusunda çinko birikiminin yüksek olması, bu dokuda metallothioneninlerin sentezlenmesi ve çinkonun atılımından sorumlu bir doku olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Solungaçlar genellikle çevrede bulunan metal düzeylerini yansıtır. Bu doku doğrudan su ile temas halinde olduğundan, suda bulunan metalleri absorbe etmektedir. Solungaçlar, yüzeyinde bulunan metal bağlama bölgeleri nedeniyle sudan ağır metalleri almada önemli bir dokudur. Balık solungaçları su kaynaklı kimyasallara maruz kalmada ana organıdır ve bu nedenle biyomonitoring organ

olarak kullanılmaktadır (Lawrence ve Hemingway, 2008). Solungaç dokusu, metabolitlerin atılımı, vücut sıvısı geçirgenlik dengesi ve asit-baz dengesi gibi birçok fizyolojik aktiviteye katılan önemli solunum dokusu / organı olduğu iyi bilinmektedir (Hao ve ark., 2013). Ağır metaller ağırlıklı olarak solungaçlarda etkilerini gösterir. Solungaçlarda metallerin birikimi, esas olarak hem çinko gibi temel metaller için hem de cıva gibi biyolojik rolü olmayan metaller için solunum yüzeyleri yoluyla meydana gelen dış ortamdan metal alımı ile olmaktadır. (Pagliarani ve ark., 1996). Solungaç ve barsak yoluyla alınan Zn muhtemelen kan yoluyla, toksisite ve / veya atılım için karaciğere taşınır (Arellano ve ark., 1999; Hattink ve ark. 2006).

Cu-NP ve CuSO₄ün etkisine 25 gün süreyle bırakılan *E. coioides*' in solungaç dokusunda bakır birikiminin yüksek düzeylerde olduğunu ve bu dokunun bakırı biriktirmede hedef doku olduğu belirtilmiştir (Wang ve ark. 2015). Farklı derişim ve sürelerde Pb'nin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un solungaç dokusunda Pb birikiminin denenen tüm ortam derişimlerinde karaciğer ve kas dokusundan daha yüksek olduğu saptanmıştır (Maruldalı, 2010). 30 gün boyunca CuO NP'lerin etkisine bırakılan *C. carpio* balıklarının solungaçlarında yüksek düzeylerde bakır konsantrasyonu saptanmıştır (Zhao ve ark., 2011). CuSO₄ ve Cu-NP'lerin farklı derişimlerinin etkisine bırakılan *O. mykiss* de solungaç dokusunda Cu birikiminin arttığı belirtilmiştir (Shaw ve ark., 2012). Hao ve ark. (2013) ZnO NP etkisine bıraktıkları *C. carpio*'da solungaç dokusunda önemli düzeylerde Zn biriktiğini saptamışlardır. Araştırmacılar balıklarda karaciğer ve solungaç dokusunun ZnO NP'ler için hedef dokular olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada ZnO NP ve ZnSO₄ farklı ortam derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'da solungaç dokusu Zn birikiminin karaciğer ve kas dokularına göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Hem ZnO NP ve hemde ZnSO₄' ün etkisinde 15 günlük sürede ortam derişimindeki 10 katlık bir artış solungaç dokusundaki çinko birikiminde yaklaşık 3 katlık bir artışa neden olmuştur. ZnO NP ve ZnSO₄ 'ın etkisinde solungaç dokusunda Zn birikiminin yüksek olması solungaçların aktif

metabolik bir doku olması ve çinkonun solungaçlarda absorpsiyonunun yüksek olması nedeniyle olabileceği düşünülmektedir.

Karaciğer zehirli maddelerin detoksifikasyonu, taşınması ve depolanmasından sorumlu başlıca organdır. Doku metabolizmasındaki farklılıklar metal birikiminde önemli rol oynar. Karaciğer ve böbrek gibi metabolik olarak aktif dokuların daha yüksek düzeylerde metal biriktirme eğilimi olduğu açıktır. Bununla birlikte, metallerin düzeyleri, dokuların farklı biyokimyasal özelliklerinin bir sonucu olarak değişebilir (Storelli ve ark., 2011). Karaciğer, vücut metabolizmasının temel organıdır. *C. carpio*’da, karaciğerde Zn içeriğinin yüksek olması, solungaç ve bağırsak adsorpsiyonu yoluyla alınan ZnO NP’lerin eş zamanlı olarak karaciğere ulaştığını göstermektedir (Hao ve ark., 2013). Buna ek olarak, karaciğerdeki Zn içeriğinin yüksek olmasının diğer bir nedeni de, NP’ler tarafından karaciğerde indüklenen bir çok metal sülfür proteininin oluşumundan kaynaklanmaktadır (Wang ve ark., 2011). Karaciğer, kimyasal kirleticilerin indikatör organı olarak kullanılır ve su ortamında bulunan kirleticilerin organizmalar üzerine etkilerini incelemeye önemli bir organ olarak kabul edilmektedir (Fernandes ve ark., 2008). Balık karaciğeri, aktif metabolizma ve detoksifikasyonun önemli bir dokusudur ve kirleticilere karşı oldukça duyarlıdır. ZnO NP’lerin etkisine bırakılan *C. carpio*’da çinko karaciğer dokusunda hücresel patolojik değişikliklere neden olmuştur. (Hao ve ark., 2013).

Farklı sürelerle Pb’nin etkisine bırakılan *P. lineatus* balıklarının karaciğerinde kurşun birikimi deney süresince artış göstermiş ve bunun karaciğerin bir depolama ve detoksifikasyon rolünden kaynaklandığını belirtilmiştir (Riberio ve ark., 2014). Selenyum ve zeolitin tatlı su balığı *O. niloticus*’ta doku cıva birikimi üzerine etkilerin belirlenmesi ile ilgili yapılan bir çalışmada denenen tüm derişim ve sürelerde karaciğerinde cıva birikiminin kas dokusuna oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır (Fırat ve Kargın, 2021). Ag NP’lerin etkisine bırakılan *O. mykiss*’in karaciğerinde yüksek miktarlarda Ag birikimi olduğu belirtilmiştir (Scown ve ark. 2010). 30 gün süre ile CuO NP ve büyük partiküllü CuO ‘nun farklı

derişimlerine bırakılan *O. niloticus*'da Cu birikimi en fazla karaciğerde birikmiş bunu böbrek, solungaç ve kas dokusu izlemiştir (Abdel-Khalek ve ark., 2015). 10 günlük süre ile Cu NP ve CuSO₄ etkisine bırakılan *O. mykiss*'in diğer dokulara oranla sadece karaciğerde bakırın biriktiği belirtilmiştir (Shaw ve ark., 2012). 20 µg/L CuO NP ve CuSO₄'ün etkisine 10 gün süreyle bırakılan *O. mykiss*'in solungaç, dalak, beyin ve kas dokularına oranla karaciğerinde daha yüksek düzeylerde Cu biriktiği belirtilmiştir (Al-Bairuty ve ark., 2013). Bu araştırmada denenen ZnO NP ve ZnSO₄ ortam deşimlerinde ve sürelerde karaciğer dokusu Zn birikimi kas dokusuna oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Karaciğerdeki Zn birikimi derişim artışına ve sürenin uzamasına bağı olarak artış göstermiştir. ZnSO₄'ün etkisinde 15 günlük sürede ortam derişimindeki 10 katlık bir artış karaciğerde çinko birikiminde yaklaşık 1,5-2 katlık bir artışa neden olmuştur. Karaciğerde yüksek düzeyde çinko birikmesi, karaciğerin metabolik olarak aktif bir doku olmasından ve metallotioneinleri üreterek metali bağlaması ve depolamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Balıklarda kas dokusu metal biriktirmede karaciğer, böbrek ve solungaç gibi aktif metabolik doku olmadığından fazla miktarda metal biriktirmemektedirler ve toksikolojik etkiye maruz kalmada hedef doku değildirler. Bu nedenle, balıklardaki kaslar, su kirliliğinin gösterge dokular olarak önerilmemektedir. Balık kasları yenilebilir başlıca kısımlardır; ancak kaslar, ağır metallerin diğer dokulara oranla biriktirildiği dokular değildirler (Kargın ve Erdem, 1992; Uysal ve ark. 2008). Kim ve ark. (2011), kas dokusunda metallerin birikimi ancak karaciğerin depolama kapasitesine aşması durumunda olabileceğini belirtmişlerdir.

Riberio ve ark. (2014) Pb'nin etkisine farklı sürelerle bıraktıkları *P. lineatus* kurşun birikiminin diğer dokulara oranla (böbrek, karaciğer ve solungaç) kas dokusunda daha az olduğunu belirtmişlerdir. *Paralichthys olivaceus*'da Cu birikimi ile ilgili yapılan bir çalışmada diğer dokulara oranla kas dokusunda bakır birikiminin düşük olduğu saptanmıştır araştırmacılar kas dokusunda metallerin biyolojik olarak birikiminin ancak karaciğerin maksimum depolama kapasitesine

ulaşması durumunda belirgin hale geldiğini belirtmişlerdir (Kim ve ark., 2011). 10 ve 20 gün lük sürelerle CuO NP etkisine bırakılan *C. carpio*'da kas dokusunda Cu birikimi karaciğer ve solungaç dokularına oranla daha düşük olduğu belirtilmiştir. (Mansouri ve ark., 2016). Bu dokudaki düşük NP konsantrasyonları, solungaç, böbrek ve karaciğer gibi diğer dokularla karşılaştırıldığında kas dokusunun daha düşük metabolik aktivitesi ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir. (Squadrone ve ark. 2013). Bu araştırmada denenen tüm ZnO NP ve ZnSO₄ derişimlerinde ve sürelerde *O. niloticus*'da kas dokusu Zn birikiminin diğer dokulara oranla çok daha az olduğu saptanmıştır. Kas dokusunda Zn birikiminin düşük düzeyde olması, kas dokusunun metaller ve nanopartiküller için depolama ve hedef doku olmaması nedeniyle olabilir.

Nanopartiküllerin toksik etkileri: metal oksit nanopartiküllerin kimyasal kompozisyonuna (ROS oluşumu ve iyonların serbest kalması) ve stres ve uyarıcılar (nanopartikülün yüzey, boyut, ve çözünmesi) nedeniyle olmaktadır (Wang ve ark., 2009). ZnO NP süspansiyonundan çözölen serbest Zn'nin çok düşük olması nedeniyle, ZnO NP farklı konsantrasyona maruz kalan *C. carpio*'da herhangi bir mortaliteye neden olmamıştır (Hao ve Chen, 2012). Yapılan çalışmalarda, TiO₂ ve CuO NP'lerin, sazan için bariz akut toksisite göstermediği (Hao ve ark., 2009; Zhao ve ark., 2011) ve metal oksit NP'lerin sazan için akut toksisitesinin düşük olduğu belirtilmiştir. (Hao ve Chen, 2012). Bu araştırmada ZnO NP ve ZnSO₄ 'ün denenen yüksek ortam derişimleri *O. niloticus*'da toksik etkiye neden olmadığı belirlenmiştir.

Nanopartiküller iyi çözölememeleri nedeniyle dokularda metal içeriğinin az olmasına ve dokular arasında büyük farklılıklar göstermesine neden olmuştur. Nanopartiküller için hedef organlar böbrek, karaciğer solungaç ve barsak dokusudur. Bu organlar aynı zamanda ağır metaller içinde hedef dokulardır (Shaw ve Handy, 2011). CuO NP'lerin mikron boyutlu parçacıklar olması ve tortuya hızla toplanma kapasitesine sahip olması nedeniyle çözönebilen Cu formlarına göre düşük miktarlarda bulunabilmekte ve su ortamına daha az zarar

verebilmektedirler (Braz-Mota ve ark., 2018). 30 gün süreyle ZnO NP ve ZnSO₄'ün 50 mg/L'lik derişiminin etkisine bırakılan *C. carpio*'da karaciğer ve solungaç dokusunda çinko birikimi ZnO NP'nin etkisindeki balıklarda ZnSO₄ etkisindeki balıklara oranla daha fazla olduğu belirtilmiştir (Hao ve ark., 2013). CuO NP ve CuSO₄'e maruz bırakılan gökkuşığı alabalığında solungaç ve böbrek dokusunda Cu birikimi, CuO NP'ye göre CuSO₄ etkisindeki balıklarda daha yüksek olduğu saptanmış ve bakır birikim çözünen formun (CuSO₄) varlığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (Isani ve ark., 2013). 20 µg/L CuSO₄ ve Cu NP'ye etkisine bırakılan *O. mykiss*'de her iki forumun etkisinde de solungaçlarda Cu birikimi olurken, Cu NP'nin etkisindeki balıkların karaciğerinde CuSO₄ aksine birikim olmamıştır, karaciğerde Cu NP'nin bulunmaması veya düşük bulunması Cu NP'nin solungaçlarda mukus ile birlik oluşturması nedeniyle olabileceği belirtilmiştir (Shaw ve ark., 2012). Solungaç Cu birikimi, hem CuSO₄ hem de Cu-NP'lerin etkisine bırakılan *O.mykiss* de artış göstermiş, ancak Cu-NP'lerin etkisine oranla CuSO₄ etkisinde birikim daha fazla olduğu saptanmıştır. (Al-Bairuty ve ark., 2016). *E. coioides* üzerinde Cu-NP'ler ve CuSO₄'ün 25 günlük etkisini belirlemek üzere yapılan bir çalışmada solungaç dokusunda CuSO₄ birikiminin Cu-NP'lerin birikiminden daha yüksek olduğunu bildirilmiştir (Wang et al. (2015)).

Bu çalışmada böbrek ve karaciğer dokularında denenen tüm ortam derişimlerinde ve çalışılan her iki sürede ZnSO₄ etkisindeki *O. nilotcus*'da çinko birikimi ZnO NP etkisindeki balıklara oranla daha fazla olduğu saptanmıştır. Solungaç ve kas dokularında 3 günlük sürede tüm ortam derişimlerinde çinko birikimi ZnSO₄ etkisindeki balıklarda ZnO NP etkisindeki balıklara oranla daha fazla olurken, 15 günlük sürede ise çinko birikimi bakımından her iki çinko forumu arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. Metal forumları arasındaki bu farklılık diğer bir ifadeyle ZnO NP'lerin etkisindeki balıkların dokularında çinko birikiminin ZnSO₄'a göre daha az olması, ZnO NP'lerin suda asılı kalması ve ZnSO₄ kadar iyi çözünmemesi nedeniyle olabileceği düşünülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırmada çinko oksit nanopartiküllerinin ve çinko sülfatın etkisine bırakılan *Oreochromis niloticus*'un, dokularında çinko birikimi incelenmiştir. Çalışmamızda bu metallerin *O. niloticus*'un böbrek, karaciğer, solungaç ve kas dokularında biriktiği ve özellikle böbrek ve solungaç dokularının bu metallerin etkisine duyarlı dokular oldukları belirlenmiştir

ZnO NP ve ZnSO₄ etkisinde *O. niloticus*'un böbrek, karaciğer, solungaç ve kas dokularında çinko düzeyinin derişim artışına ve sürenin uzamasına bağılı olarak arttığı saptanmıştır. Her iki metal formunun etkisinde en fazla birikim böbrek dokusunda olmuş, bunu solungaç, karaciğer ve kas dokusu izlemiştir. Genel olarak ZnSO₄ etkisinde kalan balıkların dokularındaki Zn birikimi ZnO NP etkisindeki balıklara oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Balıkların dokularında ZnO NP ve ZnSO₄'ın yüksek düzeyde birikimi organizmalarda bu metal forumlarının birikebileceğini göstermektedir.

Ağıır metaller, su ortamlarında beliren ve birçok organizmanın dokularında biriken dünya çapındaki en yaygın kirletici sınıflarından biri olarak bilinir. Bazı metaller yaşam süreçleri için gereklidir ve çoğu organizma bu metalleri ortamdan alma ve biriktirme eğilimindedir. Organizmalar, ağır metallerin yüksek konsantrasyonuna uzun süre maruz kalma ile fizyolojik tepki ve davranış değışiklikleri gösterirler.

Metal oksit nanopartiküllerinin (NP) üretimi ve kullanımı çok küçük boyutlarına ve bununla ilişkili spesifik fiziksel ve kimyasal özelliklere bağılı olarak hızlı bir şekilde artmıştır. Son birkaç yılda, elektronik, optik, tekstil, tıbbi cihazlar, ilaç üretim sistemleri, kimyasal sensörler ve biyolojik sensörler gibi nanoteknoloji uygulamalarının hızlı bir şekilde büyümesi nanopartiküllerin (NP) çevreye yayılımının artmasına neden olmuştur. Bu nano ürünlerin dünya çapında kullanılmasıyla atmosfer hava, toprak ve su gibi mevcut kaynaklardan çevreye artan miktarlarda NP'lerin serbest bırakılması kaçınılmazdır. Buda, çeşitli ekolojik

sistemlerin bunlara maruz kalma oranlarını arttırmakta ve muhtemelen suda yaşayan organizmalar için olası bir tehlike oluşturmaktadır. Bu nedenle, çevre üzerindeki etkilerini değerlendirmek gereklidir. NP'lerin su ortamındaki geleceği, biyotik ve abiyotik bileşenlerle olan etkileşimleri ve zarar verme potansiyelleri hala tam olarak anlaşılamamıştır ve bu belirsizlikler, insan ve çevre sağlığına yönelik riskler konusunda endişeler yaratmaktadır

Çinko oksit NP'leri (ZnO) ahşap kaplamalarda, plastikler ve tekstil ürünlerini UV ışınlarına maruz bırakma veya güneşten koruyucularda kullanılmaktadır. Çinko oksit (ZnO) NP'leri pigmentlerde, yarı iletkenlerde, güneşten koruyucularda ve gıda katkılarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Biyolojik sistemler üzerindeki yüksek zararlı toksik etkileri hakkında giderek artan bir endişe mevcuttur. ZnO NP'lerinin yaygın olarak üretilmesi ve kullanılması, su ekosistemlerine aşırı miktarlarda girmesine neden olmaktadır.

Biyoakümülyasyon, bir maddenin bir organizma tarafından ortamdaki çevresel kaynaklardan ve besin kaynaklarından alınarak biriktirilmesidir. Su ortamı, su hayvanları tarafından hızlı bir şekilde emilmesi muhtemel birçok çevre kirleticisi için bir rezervuar olarak işlevi görmektedir. Bu birikim, bir organizmada hücresel ve doku hasarına yol açmasına neden olmaktadır.

Endüstride geniş kullanım alanı bulan nanopartiküllerin su ortamlarına bırakılmaları sonucu organizmalarda toksik etkileri ve birikimleri üzerine yapılan çalışmalarda bu partiküllerin metallerin diğer formlarına oranla birikimleri ve toksik etkileri farklılıklar göstermektedir. Ülkemizde konu ile ilgili çalışmalar çok az olduğundan nanopartikül birikiminin öncelikle araştırılması ve bu birikimin metallerin diğer formlarına oranla farklılık gösterip göstermediğinin belirlenmesi önem taşımaktadır. Bu araştırmada *O. niloticus*'da dokularda ZnO NP'lerin, ZnSO₄'e oranla daha az biriktiği belirlenmiştir.

Bu araştırmanın sonuçları risk belirlenmesinde ZnO NP ve ZnSO₄ forumlarının etkileri hakkında veri sağlayacaktır. Bu metal forumlarının balık ve diğer su organizmalar üzerine yaptıkları etkilerin ortaya çıkarılarak bunlara karşı

önlemlerin alınmasında katkı sağlayacaktır. Bu çalışmada elde edilen veriler, dünyada metal ve metal nanopartikülleri ile ilgili izleme programlarında kullanılabilecektir.





KAYNAKLAR

- Abdel-Khalek, A.A., Kadry, M.A.M., Badran, S.R., Marie, M.S., 2015. Comparative Toxicity of Copper Oxide Bulk and Nano Particles in Nile Tilapia; *Oreochromis niloticus*: Biochemical and Oxidative Stress. Journal of Basic and Applied Biology, 72:43-57
- Adhikari, S., Ghosh, L., Rai, S.P., Ayyappan, S., 2009. Metal concentrations in water, sediment, and fish from sewage-fed aquaculture ponds of Kolkata, India. Environmental Monitoring and Assessment 159, 217–230.
- Al-Bairuty, G.A., Shaw, B.J., Handy, R.D., Henry, T.B., 2013. Histopathological Effects of Waterborne Copper Nanoparticles and Copper Sulphate on the Organs of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquatic Toxicology, 126:104-115.
- Al-Bairuty, G.A., Boyle, D., Henry, T.B., Handy, R.D., 2016 Sublethal effects of copper sulphate compared to copper nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at low pH: physiology and metal accumulation. Aquatic Toxicology 174, 188–198.
- Almeida, J.A., Diniz, Y.S., Marques, S.F.G., Faine, L.A., Ribas, B.O., Burneiko, R.C., 2002. The use of oxidative stress responses as biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination. Environ. Int. 27, 673–679.
- Amelia, M.; Lincheneau, C.; Silvi, S.; Credi, A. . 2012. Electrochemical properties of CdSe and CdTe quantum dots. *Chem. Soc. Rev*, 41, 5728–5743.
- Arellano J.M., Ortiz J.B., Da Silva D.C., de Canales M.L.G., Sarasquete C., Blasco, J. 1999. Levels of copper, zinc, magnesium and iron in two fish species from salt marshes of Cadiz Bay (Southwest Iberian Peninsula). Bol Inst Esp Oceanogr 15:485–488.

- Asano, T., Wang, P.C., Iwasaki, A. 2010. Spectrophotometric detection of labile zinc (II) released from metallothionein: a simple method to evaluate heavy metal toxicity. *J Biosci Bioeng.* 109(6):638-644.
- Aschberger, K., Micheletti, C., Sokull-Klüttgen, B., Christensen, F.M., 2011. Analysis of currently available data for characterising the risk of engineered nanomaterials to the environment and human health—lessons learned from four case studies. *Environ. Int.* 37(6), 1143–1156.
- Aitken, R.J., Chaudhry, M.Q., Boxall, A.B.A., Hull, M., 2006. Manufacture and use of nanomaterials: current status in the UK and global trends. *Occup. Med. (Oxford)* 56, 300–306.
- Auffan, M., Rose, J., Wiesner, M.R., Bottero, J.Y., 2009. Chemical stability of metallic nanoparticles: a parameter controlling their potential cellular toxicity in vitro. *Environ. Pollut.* 157, 1127–1133.
- Bai, W., Zhang, Z.Y., Tian, W.J., He, X., Ma, Y.H., Zhao, Y.L., Chai, Z.F., 2010. Toxicity of zinc oxide nanoparticles to zebrafish embryo: a physicochemical study of toxicity mechanism. *J. Nanopart. Res.* 12, 1645–1654.
- Bielmyer, G.K., Bullington, J.B., DeCarlo, C.A., Charnock, N.L., Chalk, S.J., Smith, K. 2012. The effects of salinity on acute toxicity of zinc to two euryhaline species of fish, *Fundulus heteroclitus* and *Kryptolebias marmoratus*. *Integ Comp Biol.*
- Blaise, C., Gagne, F., Ferard, J.F., 2008. Ecotoxicity of selected nano-materials to aquatic organisms. *Environ. Toxicol.* 23, 591–598.
- Blanchard, J., Grosell, M. 2005. Effects of salinity on copper accumulation in the common killifish (*Fundulus heteroclitus*). *Environ Toxicol Chem.* 24:1403–1413

- Bondarenko, O., Juganson, K., Ivask, A., Kasemets, K., Mortimer, M., Kahru, A., 2013. Toxicity of Ag, CuO and ZnO nanoparticles to selected environmentally relevant test organisms and mammalian cells in vitro: a critical review. *Arch. Toxicol.* 87, 1181–1200.
- Braz-Mota, S., Campo, D.F., MacCormack, T.J., Duarte, R.M., Val, A.I., Almeida-Val, V.M.F., 2018. Mechanisms of toxic action of copper and copper nanoparticles in two Amazon fish species: Dwarf cichlid (*Apistogramma agassizii*) and cardinal tetra (*Paracheirodon axelrodi*). *Science of the Total Environment* 630 (2018) 1168–1180.
- Brown, M. W., Thomas, D. G., Shurben, D., Solbe, J. F., Kay, J., Creyer, D., 1986. A Comparison of the Differential Accumulation Cadmium in the Tissues of Three Species of Freshwater Fish, *Salmo gairdneri*, *Rutilus rutilus* and *Noemacheilus barbatus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 84C (2): 213-217.
- Burkepile, D.E., Moore, M.T., Holland, M.M.. 2000. Susceptibility of five nontarget organisms to aqueous diazinon exposure. *Bull Environ Contam Toxicol.* 64,114-21.
- Bury, N.R., Walker, P.A., Glover, C.N., 2003. Nutritive metal uptake in teleost fish. *J Exp Biol* 206:11–23.
- Bystrejskowska-Piotrowska, G., Golimowski, J., Urban, P.L., 2009. Nanoparticles: Their Potential Toxicity, Waste and Environmental Management. *Waste Management*, 29:2587-2595.
- Chang, Y., Zhang, M., Xia, L., Zhang, J., Xing, G., 2012. The Toxic Effects and Mechanisms of CuO and ZnO Nanoparticles. *Materials*. 5, 2850-2871.
- Chen, D., Zhang, D., Yub, J.C., Chan, K.M., 2011. Effects of Cu₂O nanoparticle and CuCl₂ on zebrafish larvae and a liver cell-line. *Aquatic Toxicology* 105, 344– 354

- Chupania, L., Niksirata, H., Velíšeka, J., Staráa, A., Hradilováb, S., Kolaříkb, J., Panáčekb, A., Zuskováa, E. 2018. Chronic dietary toxicity of zinc oxide nanoparticles in common carp (*Cyprinus carpio* L.): Tissue accumulation and physiological responses. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147, (2018), 110-116.
- Capkin, .E, Terzi, E., Boran, H., Yandi, L., Altinok, L. 2010. Effect of some pesticides on the vital organs of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Tissue Cell*; 42:376-82.
- Cicik, B, Ay, O., Karayakar, F 2004. Effects of lead and cadmium interactions on the metal accumulation in tissue and organs of the Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Bull Environ Contam Toxicol* 72:141–148.
- Colvin, V.L., 2003. The potential environmental impact of engineered nanomaterials. *Nature Biotechnology* 21, 1166–1170.
- De Boeck, G., Vlaeminck, A., Blust, R., 1997. Effect of sublethal copper exposure on copper accumulation, food consumption, growth, energy stores, and nucleic acid content in common carp. *Arch. Environ. Contamin.* 32, 127–141.
- De Boeck, G., Meeus, W., De Coen, W., Blust, R., 2004. Tissue-specific Cubioaccumulation patterns and differences in sensitivity to waterborne Cu in three freshwater fish: rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) common carp (*Cyprinus carpio*), and gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquat. Toxicol.* 70,179–188.
- Dieni, C.A., Callaghan, N.I., Gormley, P.T., Alison Butler, K., M., MacCormack, T.J., 2014. Physiological hepatic response to zinc oxide nanoparticle exposure in the white sucker, *Catostomus commersonii*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 162,51–61.
- Duncan, J.R., Lockwood, J.L., 2001. Extinction in a field of bullets: a search for causes in the decline of the world's freshwater fishes. *Biol. Conserv.* 102:97–105

- Eisler, R., 1993. Zinc hazards to fish, wildlife, and invertebrates. *Contam Hazar Rev* 26:1–79.
- El-Sayed, A.F.M., 2006. *Tilapia Culture*. CABI Publishing, CABI International Wallingford, Oxfordshire, UK.
- Farre, M., Gajda-Schranz, K., Kantiani, L., Barcelo, D., 2009. Ecotoxicity and analysis of nanomaterials in the aquatic environment. *Anal. Bioanal. Chem.* 393, 81–95.
- Federici, G., Shaw, B.J., Handy, R.D., 2007. Toxicity of Titanium Dioxide Nanoparticles to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Gill Injury, Oxidative Stress, and Other Physiological Effects. *Aquatic Toxicology*, 84(4):415-430.
- Felten, V., Charmantier, G., Mons, R., Geffard, A., Rousselle, P., Coquery, M., Garric, J., Geffard, O., 2008. Physiological and behavioural responses of *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda) exposed to cadmium. *Aquatic Toxicology* 86, 413–425
- Fernandes, C., Fontainhas-Fernandes, A., Rocha, E., Salgado, M.A., 2008. Monitoring pollution in Esmoriz–Paramoslagoon, Portugal: liver histological and biochemical effects in *Liza saliens*. *Environ. Monit. Assess.* 145, 315–322.
- Firat, O., Çogun, H. Y., Aslanyavrusu, S. and Kargin, F., 2009. Antioxidant Responses and Metal Accumulation in Tissues of *Oreochromis niloticus* under Zn, Cd and Zn+Cd Exposures. *Journal of Applied Toxicology*, 29: 295-301.
- Firat, O., Kargin, F., 2021. Selenyum ve Zeolitin Nil Tilapyası *Oreochromis niloticus*'ta (Linnaeus, 1758) Doku Cıva Birikimi Üzerine Etkileri. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*. Cilt 6, Sayı 2, 145-150.
- Flik, G., Verbost, P. M. 1993. Calcium Transport in Fish Gills and Intestine. *J. exp. Biol.* 184, 17–29.

- Garcia-Santos, S., Fontainhas-Fernandes, A., Wilson, J.M., 2006. Cadmium tolerance in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) following acute exposure: assessment of some ion regulatory parameters. *Environ. Toxicol.* 21, 33–46.
- Goel, K.A., Sharma, S.D., Maya, A., 1987. Beryllium induced Histopathological and Histochemical Changes in Albino Rat Lungs Trachea. *J. Environ. Biol.* 8 (2), 195-200.
- Griffitt, R.J., Weil, R., Hyndman, K.A., Denslow, N.D., Powers, K., Taylor, D., Barber, D.S., 2007. Exposure to Copper Nanoparticles Causes Gill Injury and Acute Lethality in Zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Science & Technology*, 41:8178-8186.
- Guzman, F.T., Gonzalez, F.J.A., Martinez, R.R. 2010. Implementing *Lecane quadridentata* acute toxicity tests to assess the toxic effects of selected metals (Al, Fe and Zn). *Ecotoxicol Environ Saf.* 73:287-295.
- Handy, R.D., Kammer, F.V.D., Lead, J.R., Hassellóv, M., Owen, R., Crane, M., 2008. The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles. *Ecotoxicology* 17, 287–314.
- Hao, L.H., Wang, Z.Y., Xing, B.S., 2009. Effect of sub-acute exposure to TiO₂ nanoparticles on oxidative stress and histopathological changes in Juvenile Carp (*Cyprinus carpio*). *J. Environ. Sci.* 21, 1459–1466.
- Hao, L., Chen, L., 2012. Oxidative stress responses in different organs of carp (*Cyprinus carpio*) with exposure to ZnO nanoparticles. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 80, 103–110.
- Hao, L., Chen, L., Hao, J., Zhong, N., 2013. Bioaccumulation and Sub-Acute Toxicity of Zinc Oxide Nanoparticles in Juvenile Carp (*Cyprinus carpio*): A Comparative Study with Its Bulk Counterparts. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 91:52-60.

- Hattink, J., De Boeck, G., Blust, R. 2006. Toxicity, accumulation, and retention of zinc by carp under normoxic and hypoxic conditions. *Environ Toxicol Chem* 25(1):87–96
- Heath, A. G., 1995. *Water Pollution and Fish Physiology*. Lewis, CRC Press. Boca Raton, FL
- Heinlaan, M., Ivask, A., Blinova, I., 2008. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere*, 71, 1308-16.
- Hogstrand, C., Wood, C.M., 1996. The physiology and toxicology of zinc in fish. In: Taylor, E.W. (Ed.), *Toxicology of Aquatic Pollution: Physiological, Cellular and Molecular Approaches*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 61–84.
- 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. *Arc. Environ. Contam. Toxicol.*, 41: 468-474.
- Hu, C., Liu, Y., Li, X., Li, M., 2013. Biochemical Responses of Duckweed (*Spirodela polyrhiza*) to Zinc Oxide Nanoparticles. *Arch Environ Contam Toxicol* . 64:643–651
- Hussain, M.M., Kaphalia, B.S. 1990. Bioconcentration of Cadmium, Manganese and Lead in some Common Species of Wild Birds from Lucknow City. *J. Environ. Biol.* 11(2),193-201.
- Hwang, P.P., Lee, T.H. 2007. New insights into fish ion regulation and mitochondrian-rich cells. *Comp Biochem Physiol* 148A:479–497.
- Isani, G., Falcioni, M.L., Barucca, G., Sekar, D., Andreani, G., Carpena, E., Falcioni, G. 2013. Comparative toxicity of CuO nanoparticles and CuSO₄ in rainbow trout. *Ecotoxicol Environ Saf* 97:40–46.

- Joh, D.Y.; Kinder, J.; Herman, L.H.; Ju, S.-Y.; Segal, M.A.; Johnson, J.N.; ChanGarnet, K.L.; Park, J. 2011. Single-walled carbon nanotubes as excitonic optical wires. *Nat. Nanotechnol.*, 6, 51–56.
- Joo, H.S., Kalbassi, M.R., Yu, I.J., Lee, J.H., Johar, S.A. 2013. Bioaccumulation of silver nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), influence of concentration and salinity. *Aquat Toxicol* 140-141:398–406.
- Jun, X.I.A., Hai Zhou, Z.H.A.O., Guang Hua, L.U., 2013. Effects of Selected Metal Oxide Nanoparticles on Multiple Biomarkers in *Carassius auratus*. *Biomed Environ Sci*, 26(9), 742-749.
- Kahru, A., Dubourguier, H.C., 2010. From ecotoxicology to nanoecotoxicology. *Toxicology* 269, 105–119.
- Kargın, F., Erdem, C., 1992. Bakır- Çinko Etkileşiminde *Tilapia nilotica* (L.)’nın Karaciğer, solungaç ve Kas Dokularındaki Metal Birikimi. *Doğa-Tr. J. Zool.*, 16; 343–348.
- Karthigarani, M., Navaraj, P. S. 2012. Impact of Nanoparticle On Enzymes Activity I *Oreochromis mossambicus*. *International Journal of Scientific & Technology Research*.1, 13-17.
- Kim, S.G., Jang, S.W., Lee, Y.J., Kim, S.S., 2011. Cu accumulation and elimination in the tissues of the olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fish Aquat Sci* 14:210–217.
- Kirby, J., Maher, W., Krikova, F., 2001. Selenium, Cadmium, Copper and Zinc Concentrations in Sediments and Mullet (*Mugil cephalus*) from the Southern Basin of Lake Macquarie, NSW, Australia. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 40: 246-256.
- Klaine, S.J., Alvarez, P.J.J., Batley, G.E., Fernandes, T.F., Handy, R.D., Lyon, D.Y., Mahendra, S., McLaughlin, M.J., Lead, J.R., 2008. Nanomaterials in the environment: behaviour, fate, bioavailability, and effects. *Environ. Toxicol. Chem.* 27, 1825–1851.

- Kock, G., Bucher, F. 1997. Accumulation of zinc in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after waterborne exposure and dietary exposure. Bull Environ Contam Toxicol. 58:305–310
- Kool, P.L., Ortiz, M.D., vanGestel, C.A.M., 2011. Chronic toxicity of ZnO nanoparticles, non-nano ZnO and ZnCl₂ to *Folsomia candida* (Collembola) in relation to bioavailability in soil. Environ. Pollut. 159, 2713–2719
- Kumar, C. (Ed.), 2006. In: Nanotechnologies for the Life Sciences, vol. 5, 1st ed. Wiley- VHC, Weinheim.
- Lanone, S., Rogerieux, F., Geys, J., Dupont, A., Maillot-Marechal, E., Boczkowski, J., Lacroix, G., Hoet, P., 2009. Comparative toxicity of 24 manufactured nanoparticles in human alveolar epithelial and macrophage cell lines. Part. Fibre Toxicol. 6, 14.
- Lakani, B.F., Meshkini, S., Sadati, Y.M.A., Falahatkar, B., 2016. Bioaccumulation of Copper Nanoparticle in Gill, Liver, Intestine and Muscle of Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii*) Juvenile. Caspian Journal of Environmental Sciences, 14(2):105-115.
- Laurent, S.; Forge, D.; Port, M.; Roch, A.; Robic, C.; van der Elst, L.; Muller, R.N. 2008. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. Chem. Rev., 108, 2064–2110.
- Lawrence AJ, Hemingway KL (2008) Effects of pollution on fish: molecular effects and population responses. Wiley, Blackwell, pp 376.
- Lecoanet, H.F., Wiesner, M.R. 2004. Velocity effects on fullerene and oxide nanoparticle deposition in porous media. Environ Sci Technol 38:4377–4382.

- Lee, J., Kim, Ji., Shin, Yu., Ryu, Ji., Eom, Ig., Lee, J.S., Kim, Y., Kim, Pil., Choi, K., Lee, B., 2014. Serum and ultrastructure responses of common carp (*Cyprinus carpio* L.) during long-term exposure to zinc oxide nanoparticles. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 104, 9-17.
- Li, L.Z., Zhou, D.M., Peijnenburg, W.J.G.M., Gested, C.A.M., Jin, S.Y., 2011. Toxicity of zinc oxide nanoparticles in the earth worm, *Eisenia fetida* and subcellular fractionation of Zn. *Environ. Int.* 37, 1098–1104.
- Loeschner, K., Hadrup, N., Qvortrup, K., Larsen, A., Gao, X., Vogel, U., Mortensen, A., Lam, H.R., Larsen, E.H., 2011. Distribution of silver in rats following 28 days of repeated oral exposure to silver nanoparticles or silver acetate. *Part. Fibre Toxicol.* 8, 18.
- Lu, L., Liu, G., Wang, J., Yuan Liu, Y., 2017. Accumulation and health risk assessment of trace elements in *Carassius auratus gibelio* from subsidence pools in the Huainan coalfield in China. *Environ Monit Assess.* 189, 479-495.
- Ma, H., Williams, P.L., Diamond, S.A., 2013. Ecotoxicity of manufactured ZnO nanoparticles-a review. *Environ. Pollut.* 172, 76–85.
- Mansouri, B., Maleki, A., Davari, B., Johari, S.A., Shahmoradi, B., Mohammadi, E., Shahsavari, S., 2016. Histopathological Effects Following Short-Term Coexposure of *Cyprinus carpio* to Nanoparticles of TiO₂ and CuO. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188(575):5-12.
- Marulda, O., 2010. Kurşun ve kurşun-selenyum'un etkisine bırakılan *Oreochromis niloticus* (L.)'da kurşunun karaciğer, böbrek, beyin ve solungaç dokularında birikimi ve AChE aktivitesine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 56s.
- Masciaglioli, T., Zhang, W.-X., 2003. Environmental technologies at the nanoscale. *Environ. Sci. Technol.* 37, 102–108.
- Maynard A, Michelson E 2006. The Nanotechnology Consumer Products Inventory. Woodrow Wilson International Center for Scholars.

- Mazon, A.F., Fernandes, M.N., 1999. Toxicity and Differential Tissue Accumulation of Copper in the Tropical Freshwater Fish, *Prochilodus scrofa* (Prochilodontidae). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 63:797-804
- McGeer, J.C., Szebedinszky, C., McDonald, D.G., Wood, C.M., 2000. Effects of chronic sublethal exposure to waterborne Cu, Cd or Zn in rainbow trout. 1: Iono-regulatory disturbance and metabolic costs. Aquatic Toxicology 50 (2000) 231–243.
- Miranda, R.R., Silveira, A.D., Jesus, I.P., Grötzner, S.R., Voigt, C.L., Campos, S.X., Garcia, J.R., Randi, M.A.F., Ribeiro, C.A., Neto, F.F., 2016. Effects of realistic concentrations of TiO₂ and ZnO nanoparticles in *Prochilodus lineatus* juvenile fish. Environ. Sci. Poll. Res. 23, 5179–5188.
- Monfared, A.L., Soltani,, S. 2013. Effects of silver nanoparticles administration on the liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): histological and biochemical studies. European Journal of Experimental Biology, 3(2):285-289.
- Nabavi, S.F., Nabavi, S.M., Latifi, A.M., Eslami, S., Ebrahimzadeh, M.A. 2012. Determination of trace elements level of pikeperch collected from the Caspian Sea. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 88,401–405.
- Oberdörster, G., Oberdörster, E., Oberdörster, J., 2005. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. Environ. Health Perspect. 113, 823–839.
- Osmond, M.J., McCall, M.J., 2010. Zinc oxide nanoparticles in modern sunscreens: an analysis of potential exposure and hazard. Nanotoxicology 4, 15–41.
- Palaniappan, P.L.R.M., Karthikeyan, S. 2009. Bioaccumulation and depuration of chromium in the selected organs and whole body tissues of freshwater fish *Cirrhinus mrigala* individually and in binary solutions with nickel. J Environ. Sci. 21:229–236

- Palaniappan, P.L.R.M., Krishnakumar, N., Vadivelu, M. 2009. Bioaccumulation of lead and the influence of chelating agents in *Catla catla* fingerlings. Environ Chem Lett 7:51–54.
- Parry, G. 1966. Osmotic adaptation in fishes. Biol. Rev. 41, 392–444.
- Patel, M., Rogers, J.T., Pane, E.F., Wood, C.M. 2006. Renal responses to acute lead waterborne exposure in the freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquat Toxicol 80:362–371
- Paterson, G., Ataria, J.M., Hoque, M.E., 2011. The toxicity of titanium dioxide nanopowder to early life stages of the Japanese medaka (*Oryzias latipes*). Chemosphere, 82, 1002-9.
- Perez, S., Farre, M., Barcelo, D. 2009. Analysis, behavior and ecotoxicity of carbon-based nanomaterials in the aquatic environment. TrAC Trends Anal Chem. 28: 820-832.
- Petersen, E.J., Henry, T.B., 2012. Methodological considerations for testing the ecotoxicity of carbon nanotubes and fullerenes: review. Environmental Toxicology and Chemistry 31, 60–72.
- Poopal, R.K., Ramesh, M., Maruthappan, V., Babu Rajendran, R. 2017. Potential effects of low molecular weight phthalate esters ($C_{16}H_{22}O_4$ and $C_{12}H_{14}O_4$) on the freshwater fish *Cyprinus carpio*. Toxicol Res 6(4):505–520.
- Priya, K., H., Ramesh, M., M. Saravanan, M., N. Ponpandian, N., 2015. Ecological risk assessment of silicon dioxide nanoparticles in a fresh-water fish *Labeo rohita*: Hematology, ionoregulation and gill Na/K ATPase activity. Ecotoxicology and Environmental Safety. 120, 295-302.
- Pagliarani, A., Ventrelh, V., Trombetti, F., Pirini, M., Trigari, G., Borgutti, A.R., 1996. Mussel Microsomal Na^+ - Mg^{2+} -ATPase Sensitiv to Waterborne Mercury, Zinc and Ammonia. Comp. Biochem. Physiol. Vol. 113C, No. 2, 185-191.

- Ramesh, R., Kavitha, P., Kanipandian, Arun, N.S., Thirumurugan, R., Subramanian, P. 2013. Alteration of antioxidant enzymes and impairment of DNA in the SiO₂ nanoparticles exposed zebra fish (*Danio rerio*). Environ Monit Assess (2013) 185:5873–5881.
- Ribeiro, A.M., Risso, W.E., Fernandes, M.N., Martinez, C.B.R., 2014. Lead accumulation and its effects on the branchial physiology of *Prochilodus lineatus*. Fish Physiol Biochem (2014) 40:645–657.
- Rogers, J.T., Richards, J.G., Wood, C.M. 2003. Ionoregulatory disruption as the acute toxic mechanism for lead in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquat Toxicol 64:215–234
- Sanchez, W., Piccini, B., Ditché, J.M., Porcher, J.M., 2008. Assessment of seasonal variability of biomarkers in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) from a low contaminated stream: implication for environmental biomonitoring. Environ Int. 34(6), 791-8.
- Sathya, V., Ramesh, M., Poopal, R.K., Dinesh, B., 2012. Acute and sublethal effects in an Indian major carp *Cirrhinus mrigala* exposed to silver nitrate: Gill Na/K-ATPase, plasma electrolytes and biochemical alterations. Fish & Shellfish Immunology. 32, 862-868.
- Scherer, E., McNicol, R.E., Evans, R.E., 1997. Impairment of lake trout foraging by chronic exposure to cadmium: a black-box experiment. Aquat. Toxicol. 37, 1–7.
- Scown, T.M., Santos, E.M., Johnston, B.D., Gaiser, B., Baalousha, M., Mitov, S., Lead, J.R., Stone, V., Fernandes, T.F., Jepson, M., van Aerle, R., Tyler, C.R. 2010. Effects of aqueous exposure to silver nanoparticles of different sizes in rainbow trout. Toxicol Sci 115(2):521–534.
- Shaw, B.J., Handy, R.D., 2011. Physiological Effects of Nanoparticles On Fish: A Comparison of Nanometals Versus Metal Ions. Environment International, 37(6):1083-1097.

- Shaw, B.J., Al-Baurity, G., Handy, R.D., 2012. Effects of Waterborne Copper Nanoparticles and Copper Sulphate on Rainbow Trout, (*Oncorhynchus mykiss*): Physiology and Accumulation. *Aquatic Toxicology*, 116(117): 90-101.
- Shobana, C., Rangasamy, B., Poopal, R.K., Renuka, S., Ramesh, M., 2018. Green synthesis of silver nanoparticles using *Piper nigrum*: tissue-specific bioaccumulation, histopathology, and oxidative stress responses in Indian major carp *Labeo rohita*. *Environmental Science and Pollution Research* 25:11812–11832.
- Shyn, A., Chalk S. J., Smith, K. Charnock, N.L., Bielmyer, G.K., 2012. Zinc Distribution in the Organs of Adult *Fundulus heteroclitus* After Waterborne Zinc Exposure in Freshwater and Saltwater Arch Environ Contam Toxicol (2012) 63:544–553
- Smith, B.P., Hejtmancik, E., Camp, B.J., 1976. Acute Effects of Cadmium on *Ictalurus punctatus* (Catfish). *Bull Environ Contam Toxicol* 15, 271-277.
- Squadrone, S., Prearo, M., Brizio, P., Gavinelli, S., Pellegrino, M., Scanzia, T., Guarise, S., Bendetto, A., Abete, M.C., 2013. Heavy metals distribution in muscle, liver, kidney and gills of European catfish (*Silurus glanis*) from Italian Rivers. *Chemosphere* 90:358–365.
- Sorensen, E.M. 1991. Metal poisoning in fish. CRC Press, Boca Raton, FL
- Storelli, M.M., Cuttone, G., Marcotrigiano, G.O. 2011. Distribution of trace elements in the tissues of smooth hound *Mustelus mustelus* (Linnaeus, 1758) from the southern–eastern waters of Mediterranean Sea (Italy). *Environ Monit Assess.* 174:271–281.
- Sun, L.T., Jeng, S.S., (1998) Comparative zinc concentrations in tissues of common carp and other aquatic organisms. *Zool Stud.* 37:184–190
- Sun O, Wang Q, Jena P, Kawazoe Y (2005) Clustering of Ti on a C-60 surface and its effect on hydrogen storage. *J Am Chem Soc* 127:14582–14583.

- Thaker, J., Chhaya, J., Nuzhat, S., Mittal, R., Mansuri, A.P., Kundu, R., 1996. Effects of chromium(VI) on some ion-dependent ATPases in gills, kidney and intestine of a coastal teleost *Periophthalmus Apes*. *Toxicology*. 112, 237-244.
- Thomas, D. G., Brown, M. W., Shurben, D., Solbe, J. F. 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. *Comp. Biochem. Physiol. Part. C. Pharmacol. and Toxicol.*, 82 (1): 55-62.
- Tucker, R.K., 1979. Effects of In Vivo Cadmium Exposure on ATPases in Gill of the Lobster, *Homarus americanus*. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 23, 33-35.
- Tulasi, S.J., reddy, P.U., Rao, J.V.R. 1992. Accumulation of Lead and Effects of total lipids and Lipid Derivates in Freshwater Fish *Anabas testudines*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 23: 33-38.
- Turkmen, M., Turkmen, A., Tepe, Y., Tore, Y., Ates, A., 2009. Determination of metals in fish species from Aegean and Mediterranean seas. *Food Chem.* 113, 233–237.
- Uysal, K., Emre, Y., Köse, E., 2008. The determination of heavy metal accumulation ratios in muscle, skin and gills of some migratory fish species by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) in Beymelek Lagoon (Antalya/Turkey). *Microchem J* 90(1):67–70.
- Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ Toxicol Pharmacol.* 13, 57-149.
- Wang, H.H., Wick, R.L., Xing, B.S., 2009. Toxicity of nanoparticulate and bulk ZnO, Al₂O₃ and TiO₂ to the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Environ. Pollut.* 157, 1171–1177

- Wang, M., Cao, J.L., Han, G.J., 2011. Effect of nanometer zinc oxides on CAT activities in liver, kidney, and brain of carps. J. Huaihai Inst. Technolo. (Nat. Sci. Ed.) 20 (3), 89–92.
- Wang, T., Long, X., Cheng, Y., Liu, Z., Yan, S., 2015. A Comparison Effect of Copper Nanoparticles versus Copper Sulphate on Juvenile *Epinephelus coioides*: Growth Parameters, Digestive Enzymes, Body Composition, and Histology as Biomarkers. International Journal of Genomics, 215:1-10.
- Xia, J., Zhao, H.Z., Lu, G.H., 2013. Effects of selected metal oxide nanoparticles on multiple biomarkers in *Carassius auratus*. Biomed. Environ. Sci. 9, 742–749.
- Xiong, D., Fang, T., Yu, L., Sima, X., Zhu, W., 2011. Effects of Nano-Scale TiO₂, ZnO and Their Bulk Counterparts on Zebrafish: Acute Toxicity, Oxidative Stress and Oxidative Damage. Science of the Total Environment, 409:1444-1452.
- Yan, L.; Zheng, Y.B.; Zhao, F.; Li, S.; Gao, X.; Xu, B.; Weiss, P.S.; Zhao, Y. . 2012. Chemistry and physics of a single atomic layer: Strategies and challenges for functionalization of graphene and graphene-based materials. Chem. Soc. Rev, 41, 97–114.
- Zhang L, Wang, W.X., 2007. Gastronintestinal uptake of cadmium and zinc by a marine teleost *Acanthopagrus schlegeli*. Aquat Toxicol 84:173–181.
- Zhao, J., Wang, Z.Y., Liu, X.Y., Xie, X.Y., Zhang,K., Xing, B.S., 2011. Distribution of CuO nanoparticles in juvenile carps (*Cyprinus carpio*) and their potential toxicity. Journal Hazard. Mater.197,304–310.
- Zhu, M.T., Feng, W.Y., Wang, B., Wang, T.C., Gu, Y.Q., Wang, M., Wang, Y., Ouyang, H., Zhao, Y.L., Chai, Z.F., 2008. Comparative study of pulmonary responses to nano and submicron-sized ferric oxide in rats. Toxicology 247, 102–111.

ÖZGEÇMİŞ

Adana’da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Adana’da tamamladı. 2003-2006 yılları arasında 75. Yıl Anadolu Lisesi Fen/Fen Bilimlerinden mezun oldu. 2009-2013 yılları arasında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde lisans öğrenimini tamamlayarak mezun oldu. 2018 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde Yüksek Lisans programına başladı. Gıda ve ilaç sektörlerinde çalışmakta.

