

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**Bakır ve Bakır Oksit Nanopartikülünün *Oreochromis niloticus*
Dokularında Birikimi ve İyon Düzeyleri ve ATP az Aktivitesi
Üzerine Etkileri**

Hazal SAĞ VARKAL

Biyoloji Anabilim Dalı

Mart, 2024

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZ ONAYI

**Bakır ve Bakır Oksit Nanopartikülünün *Oreochromis niloticus*
Dokularında Birikimi ve İyon Düzeyleri ve ATP az Aktivitesi
Üzerine Etkileri**

Hazal SAĞ VARKAL

Biyoloji Anabilim Dalı

Bu Doktora Tezi / /2024 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

Jüri : Prof. Dr. Ferit KARGIN (Danışman)
: Prof.Dr. Hikmet Y. ÇOĞUN
: Doç.Dr. Benay TUNÇSOY
: Doç. Dr. Özge TEMİZ
: Dr.Öğr. Üyesi Mehmet SULANÇ

Bu Tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Tez No:

Prof. Dr. Sadık DİNÇER
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: FYL-2019-12481

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
ÇİZELGELER DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	IX
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	11
3. MATERYAL VE METOD	15
3.1. Materyal	15
3.1.1. Bakır oksit nanopartikül karakterizasyonu	16
3.2. Cihazlar ve Kimyasal Maddeler.....	17
3.2.1. Cihazlar	17
3.2.2. Kimyasal Maddeler	17
3.3. Metod	18
3.3.1. Doku birikimi	18
3.3.2. Doku Homojenatların Hazırlanışı.....	18
3.3.4. Na ⁺ /K ⁺ ATPaz Aktivitesinin Belirlenmesi	22
3.3.5. Protein Yöntemi	22
3.3.6. İstatistik	23
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	25
4.1. Bakır Birikimi	25
4.2. İyon Düzeyleri.....	32
4.2.1. Sodyum İyon Düzeyleri.....	32
4.2.2. Potasyum İyon Düzeyleri	39
4.2.3. Kalsiyum İyon Düzeyleri.....	46
4.2.4. Magnezyum İyon Düzeyleri	53
4.3. ATP az Aktivitesi.....	61
4.4. Tartışma	69
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	85
KAYNAKLAR	87
ÖZGEÇMİŞ	107

**Bakır ve Bakır Oksit Nanopartikülünün *Oreochromis niloticus*
Dokularında Birikimi ve İyon Düzeyleri ve ATP az Aktivitesi
Üzerine Etkileri**

Hazal SAĞ VARKAL

Danışman: Prof. Dr. Ferit KARGIN

Biyoloji Anabilim Dalı

ÖZ

Bu araştırmada CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 ve 1.0 mg/L derişimlerinin 7 ve 21 günlük sürelerle etkisine bırakılan *Oreochromis niloticus* 'un karaciğer, bağırsak, solungaç ve kas dokularında bakır birikimi, Na⁺, K⁺, Ca⁺² ve Mg⁺² iyon düzeyleri ve Na⁺/K⁺-ATPaz aktivitesi üzerine etkileri incelenmiştir. Bu çalışmada CuO NP ve CuSO₄'ın etkisine bırakılan balıkların dokularında bakırın birikimi ortamdaki bakır derişimi ve sürenin artmasıyla artmıştır. En yüksek bakır birikimi karaciğer dokusunda olmuş, bunu bağırsak, solungaç ve kas dokusu izlemiştir. Denenen tüm şartlarda CuO NP'lerin etkisine bırakılan balıkların dokularındaki bakır birikimi, CuSO₄'ın etkisine bırakılan balıklara oranla daha yüksek düzeyde olduğu bulunmuştur.

Doku iyon (Na⁺, K⁺, Ca⁺², ve Mg⁺²) düzeyleri CuO NP ve CuSO₄ tarafından etkilenmiştir. *O. niloticus*'da 21 günlük etki süresi sonunda denenen CuO NP ve CuSO₄ ortam derişimleri karaciğer, bağırsak, solungaç ve kas dokusu Na⁺ ve K⁺ düzeylerini azaltmıştır. *O. niloticus*'da 21 günlük etki süresi sonunda denenen CuO NP ve CuSO₄ ortam derişimleri karaciğer ve solungaç dokusu Ca⁺² düzeyini azaltırken, bağırsak ve kas doku Ca⁺² düzeyini ise artırmıştır. CuO NP ve CuSO₄ konsantrasyonları *O. niloticus*'un karaciğer, barsak ve solungaç dokularında Mg⁺² düzeylerinde azalmaya, kas dokusunda ise artışa neden olmuştur.

O. niloticus 'da CuO NP ve CuSO₄ dokularda Na⁺,K⁺-ATP az aktivitelerinde değişikliğe neden olmuştur. Denenen tüm ortam derişimlerinde, CuO NP ve CuSO₄ etkisinde Na⁺,K⁺-ATP az aktivitesi karaciğer, bağırsak, solungaç ve kas dokusunda bir azalma göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Bakır, Nanopartikül, Birikim, İyonlar, ATPaz, *O. niloticus*

**Accumulation of Copper and Copper Oxide Nanoparticle in
Tissues of *Oreochromis niloticus*, and Effects on Ion Levels and
ATP az Activity**

Hazal SAĞ VARKAL

Advisor: Prof. Dr. Ferit KARGIN

Department of Biology

ABSTRACT

In this study, copper accumulation in liver, intestine, gill and muscle tissues of *Oreochromis niloticus*, which was exposed to 0.1 and 1.0 mg/L concentrations of CuO NP and CuSO₄ for 7 and 21 days, and Na⁺, K⁺, Ca⁺² and Mg⁺² ion levels and the effects on Na⁺/K⁺-ATPase activity were investigated.

In this study, copper accumulations in the tissues after to CuO NP and CuSO₄ for 7 and 21 days increased with increasing concentrations of copper and time in the medium. The highest accumulation occurred in the liver followed by intestine, gill and muscle. It was found that the copper accumulation in the tissues of fish exposed to CuO NPs in all tested conditions was higher than those of fish exposed to CuSO₄.

Our data show that tissue ion (Na⁺, K⁺, Ca⁺² ve Mg⁺²) levels effected by CuO NP and CuSO₄ . In all the concentration of CuO NP and CuSO₄ the end of the 21th day Na⁺ and K⁺ levels in the liver, intestine, gill and muscle of *O. niloticus* were decreased compared with control. After 21 days of CuO NP and CuSO₄ exposures tissue Ca⁺⁺ levels showed an decrease at gill and liver tissues and a increase in intestine and muscle tissue of *O. niloticus*. CuO NP and CuSO₄ concentrations caused a decrease in Mg⁺² levels in the liver, intestine and gill tissues while an increase in muscle tissue of *O. niloticus*.

In tissues of *O. niloticus*, Na⁺,K⁺-ATP ase activities were altered by exposure CuO NP and CuSO₄. In all the concentrations tested, CuO NP and CuSO₄ caused a decrease in Na⁺,K⁺-ATP ase activity in the liver, intestine, gill and muscle tissues

Key Words: Copper, Nanoparticle, Accumulation, Ions, ATPase, *O. niloticus*

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.



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Deney Ortam Suyunun Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	15
Çizelge 3.2. CuO nanopartikül karakterizasyonu (Ortalalama±Standart hata).....	16
Çizelge 3.3. Na ⁺ /K ⁺ ATPaz Yöntemi.....	22
Çizelge 3.4. Lowry Yöntemi ile Protein Tayini.....	23
Çizelge 4.1. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün etkisine 7 gün süre ile bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularında bakır birikimi (µg/g k.a.).	26
Çizelge 4.2. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün etkisine 21 gün süre ile bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularında bakır birikimi (µg/g k.a.).	27
Çizelge 4.3. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün farklı derişimlerinin etkisine 7 gün süre ile bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularında bakırın sodyum düzeyi üzerine etkisi (µg Na ⁺ /g k.a.).	33
Çizelge 4.4. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün farklı derişimlerinin etkisine 21 gün süre ile bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularında bakırın sodyum düzeyi üzerine etkisi (µg Na ⁺ /g k.a.).	34
Çizelge 4.5. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün farklı derişimlerinin etkisine 7 gün süre ile bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularında bakırın potasyum düzeyi üzerine etkisi (µg K ⁺ /g k.a.).	40
Çizelge 4.6. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün farklı derişimlerinin etkisine 21 gün süre ile bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularında bakırın potasyum düzeyi üzerine etkisi (µg K ⁺ /g k.a.).	41
Çizelge 4.7. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün farklı derişimlerinin etkisine 7 gün süre ile bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularında bakırın Kalsiyum düzeyi üzerine etkisi (µg Ca ⁺⁺ /g k.a.). ..	47
Çizelge 4.8. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün farklı derişimlerinin etkisine 21 gün süre ile bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularında bakırın Kalsiyum düzeyi üzerine etkisi (µg Ca ⁺⁺ /g k.a.). ..	48
Çizelge 4.9. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün farklı derişimlerinin etkisine 7 gün süre ile bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularında bakırın Magnezyum düzeyi üzerine etkisi (µg Mg ⁺⁺ /g k.a.).	54
Çizelge 4.10. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün farklı derişimlerinin etkisine 21 gün süre ile bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un dokularında bakırın Magnezyum düzeyi üzerine etkisi (µg Mg ⁺⁺ /g k.a.).	55
Çizelge 4.11. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün farklı derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusunda bakırın Na ⁺ /K ⁺ - ATP az aktivitesi üzerine etkisi (µmol Pi/mg Prt/sa).....	61
Çizelge 4.12. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün farklı derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un bağırsak dokusunda bakırın Na ⁺ /K ⁺ - ATP az aktivitesi üzerine etkisi (µmol Pi/mg Prt/sa).....	62
Çizelge 4.13. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün farklı derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un solungaç dokusunda bakırın Na ⁺ /K ⁺ - ATP az aktivitesi üzerine etkisi (µmol Pi/mg Prt/sa).....	63

Çizelge 4.14. CuO NP ve CuSO₄'ün farklı derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un kas dokusunda bakırın Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesi üzerine etkisi (µmol Pi/mg Prt/sa)... 64



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1.	CuO NP'nin Transmisyon elektron mikroskobu görüntüsü.....	16
Şekil 3.2.	Fosfat derişimi ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki.....	19
Şekil 4.1.	CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusunda süreye bağlı bakır birikiminin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P < 0.05).	28
Şekil 4.2.	CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un bağırsak dokusunda süreye bağlı bakır birikiminin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P < 0.05).	30
Şekil 4.3.	CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un solungaç dokusunda süreye bağlı bakır birikiminin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P < 0.05).	31
Şekil 4.4.	CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un kas dokusunda süreye bağlı bakır birikiminin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P < 0.05).	32
Şekil 4.5.	CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusunda süreye bağlı sodyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (mg Na/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P < 0.05).	35
Şekil 4.6.	CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un bağırsak dokusunda süreye bağlı sodyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (mg Na/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P < 0.05).	37
Şekil 4.7.	CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un solungaç dokusunda süreye bağlı sodyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (mg Na/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P < 0.05).	38
Şekil 4.8.	CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un kas dokusunda süreye bağlı sodyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (mg Na/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P < 0.05).	39

Şekil 4.9. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusunda süreye bağlı potasyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P < 0.05$).	42
Şekil 4.10. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un bağırsak dokusunda süreye bağlı potasyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P < 0.05$).	44
Şekil 4.11. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un soungaç dokusunda süreye bağlı potasyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P < 0.05$).	45
Şekil 4.12. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un kas dokusunda süreye bağlı potasyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P < 0.05$).	46
Şekil 4.13. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusunda süreye bağlı kalsiyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P < 0.05$).	49
Şekil 4.14. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un bağırsak dokusunda süreye bağlı kalsiyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P < 0.05$).	51
Şekil 4.15. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un solungaç dokusunda süreye bağlı kalsiyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P < 0.05$).	52
Şekil 4.16. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un kas dokusunda süreye bağlı kalsiyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P < 0.05$).	53
Şekil 4.17. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusunda süreye bağlı magnezyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P < 0.05$).	56

Şekil 4.18. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un bağırsak dokusunda süreye bağı magnezyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ($P < 0.05$).	58
Şekil 4.19. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un solungaç dokusunda süreye bağı magnezyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ($P < 0.05$).	59
Şekil 4.20. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un kas dokusunda süreye bağı magnezyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ($P < 0.05$).	60
Şekil 4.21. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusunda süreye bağı Na,K -ATP az aktivitesinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (µmol Pi/mg Prt/sa).	65
Şekil 4.22. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un bağırsak dokusunda süreye bağı Na,K -ATP az aktivitesinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (µmol Pi/mg Prt/sa).	66
Şekil 4.23. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un solungaç dokusunda süreye bağı Na,K -ATP az aktivitesinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (µmol Pi/mg Prt/sa).	67
Şekil 4.24. CuO NP ve CuSO ₄ 'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'un kas dokusunda süreye bağı Na,K -ATP az aktivitesinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (µmol Pi/mg Prt/sa).	68

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	: santigrad derece
µg	: mikrogram
µl	: mikrolitre
cm	: santimetre
dk	: dakika
g k.a.	: gram kuru ağırlık
g/dL	: gram başına desilitre
gr	: gram
M	: molarite
mg	: miligram
mg/dL	: desilitre başına miligram
mg/L	: Litre başına miligram
ml	: mililitre
mm	: milimetre
mmol/L	: litre başına milimol
nm	: nanometre
O ₂ ⁻	: superoksit radikali
OH [·]	: hidroksil radikali
sn	: saniye

1. GİRİŞ

Kirletici maddelerin çevreye bırakılması antropojenik faaliyetlere bağlı olarak ortaya çıkabilmekte buda, toprak, su ve hava kirliliği yaratarak organizmaların sağlığını tehdit etmektedir. Ağır metaller, su kolonunda ve sedimentlerde görülen ve birçok organizmanın dokularında biriken dünya çapındaki en yaygın kirletici sınıflarından biri olarak bilinir. Ağır metaller, toksisiteri, biyolojik olarak parçalanabilmelerinin zor olması ve organizmalarda birikme eğilimleri nedeniyle su ortamının ciddi kirletici maddeleri olarak kabul edilirler. Madencilik, sanayi ve tarımsal faaliyetler, suda metal konsantrasyonlarına artışına neden olmakta ve bu da subletal konsantrasyonlarda bile su ortamında zararlı etkilere neden olmaktadır. Sucul organizmalar, suda bulunan doğal bileşiklerin etkilerine adapte olmakla birlikte, ağır metal, pestisit gibi çeşitli kirleticilere maruz kalabilirler. Su ekosistemlerinin kirlenmesine neden olan ağır metallerin yaygın kullanımı, çevre için büyük bir tehdit oluşturmaktadır. Su ekosistemlerinin biyo-izlenmesi, ağır metaller gibi kimyasalların artmasına bağlı olarak gittikçe önem kazanmaktadır. Metal iyonları, hücresel yapıları bozan veya metabolik fonksiyonu etkileyebilecek muhtemel mekanizmalar ile organizmalara hücresel düzeyde zarar verebilir. Metal iyonları gerekli metabolik kofaktörlerin yerini alabilir, hücrenin kimyasal bileşimini değiştirebilir, hücrelerdeki makromoleküllere, özellikle enzimlerle bağlanarak aktivitelerini değiştirebilirler. Ağır metaller, akuatik canlılarda solunum ve osmoregülasyon sistemini bozabilmekte (Bjerregard ve Vislie 1986), balıkların fizyolojik aktivitelerini etkileyerek doku ve organlarına zarar verebilmekte, beslenme ve üreme fonksiyonlarını olumsuz yönde etkilemekte ve balıklarda fonksiyonel ve yapısal değişikliklere neden olabilmektedirler (Gabryelak ve ark., 2000).

Bakır doğada en çok bulunan geçiş metallerinden biridir ve metabolik fonksiyonlar için organizmalar tarafından küçük dozlarda gerekli olan önemli bir eser metaldir, ancak vücuda alınan konsantrasyonu fizyolojik/biyokimyasal detoksifikasyon kapasitesini aşması durumunda potansiyel olarak toksik olmaya başlar (Rainbow, 1992). Bakır (Cu), başta tel, diğer elektrikli ürünler ve sıhhi tesisat boruları üretiminde yaygın olarak kullanılan bir metaldir (Lander ve Reuther, 2004). Doğal kirli olmayan sularda bakır düzeyleri genelde çok düşük olup 0,5 ila 1 µg/L düzeyindedir (Moore and Ramamoorthy, 1984). Bununla birlikte, endüstriyel gelişme, su ortamında bakır düzeyinin sürekli olarak artışına neden olmuştur. Son 100 yılda küresel üretim katlanarak artmıştır (Lander ve Reuther, 2004) ve artan üretim ile birlikte daha fazla miktarda Cu, alıcı sulara girmekte ve yüksek konsantrasyonlarda toksik olması nedeniyle su organizmalarını etkilemektedir (Pyle ve ark., 2005). Balıklarda toksik etkiye neden olan Cu düzeyleri türe ve yaşam evrelerine göre değişirken, suyun kimyası da bu toksik etkide önemli bir rol oynar (Taylor ve ark., 2000). Kronik Cu'ya maruz kalan balıklarda, iştah kaybı, büyüme baskılanması, iyon regülasyonunda bozukluk gibi çeşitli fizyolojik ve davranışsal değişiklikler görülmektedir (Taylor ve ark. 2000).

Bakır (Cu), hücrel metabolizmada önemli bir rol oynamaktadır. Cu, hemoglobin sentezi, kemik oluşumu, sinir sisteminde miyelin bakımı ve temel enzimlerin (sitokrom oksidaz, dopamin hidroksilaz ferrokksidaz ve tirozinaz gibi) birincil bir bileşeni olarak çok sayıda biyolojik proseslerde önemli bir rol oynamaktadır (Tan ve ark., 2011). Bakır, sitokrom C oksidaz da dahil olmak üzere birçok enzim için bir kofaktördür ve bu nedenle tüm ökaryot hücrelerinde solunum için gereklidir (Linder ve ark., 1998). Solunum enzimi sitokrom oksidaz dahil yapılarında bakır bulunması gereken en az 12 majör protein vardır (Hassall ve Dangerfield, 1990). Bakırın redoks özelliği bu elementi zehirli hale getirir. Suda yaşayan organizmalar bakırı doğrudan sudan alabilir ve ortamdaki bakır konsantrasyonlarının yükselmesi, çeşitli dokularda bakır birikimine neden olabilir (Grosell and Wood, 2002; Kamunde et al., 2002). Cu balıklarda karaciğer süperoksit dismutaz ve kalp sitokrom oksidaz aktivitelerini azaltmaktadır (Lall, 2002). Bakırın gereksinimi ve toksisitesi arasındaki sınır çok hassastır ve çeşitli endojen ve eksojen faktörlere bağlıdır (Weber ve ark., 1992). Hayvanların toksik maddelere toleransı, bazı endojen (yani safha, türler, fizyoloji) ve eksojen (yani sıcaklık, tuzluluk, alkalilik) faktörlere göre değişir.

Nanoteknoloji dünyadaki gelişmekte olan ve dinamik olarak gelişen teknolojilerden biridir ve piyasa 1000'den fazla nano ürüne sahiptir (Arora ve ark., 2011). Son on yılda, nanoteknolojinin hızla gelişmesi, mühendislik nanopartiküllerinin (NP) potansiyel ekolojik riskleri ile ilgili çevresel kaygıları büyük ölçüde artırmıştır (Syberg and Hansen, 2016). Birçok endüstriyel proseste geniş uygulama alanları bulma nedeniyle nano partiküller (NP'ler) giderek daha fazla üretilmekte ve besin ve organik maddelerden kirleticilerin uzaklaştırılmasına kadar bir çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (Sanchez ve ark., 2012). Metal oksit NP'ler (MNP'ler) en çok kullanılan mühendislik nanomateriyalleridir (Vance ve ark., 2015).

Nanomateriyallerin kişisel, ticari, endüstri, tarım, medikal ve askeri uygulamalarda kullanılan yüzlerce ürünü bulunmaktadır (Griffitt ve ark., 2007; Klaine ve ark., 2008). Bununla birlikte, küçük boyutlarından dolayı, nanomateriyallere maruz kalma ile ilişkili risk bulunmaktadır; çünkü bu nanomateriyaller, minyatür ölçeğiyle hücre zarı içine serbestçe girebilir ve bunların girişi, materyal, boyut ve organizmaya bağlı olarak değişim göstermektedir. (Monfared ve Soltani, 2013). NP'lerin su ortamındaki geleceği, biyotik ve abiyotik bileşenlerle olan etkileşimleri ve zarara neden olma potansiyelleri hala tam olarak anlaşılamamıştır ve bu belirsizlikler, insan ve çevre sağlığına yönelik riskler konusunda endişeler yaratmaktadır (Scown ve ark., 2010).

Geniş yüzey alanı ve reaksiyon aktivitesi gibi benzersiz özelliklerinden dolayı nanopartiküller (NP) son yıllarda hemen tüm alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. NP, doğal veya sentetik, amorf ve yarı kristal yapı oluşturabilirler ve genelde 1 ila 100 nm arasında bir boyuta sahip materyallerdirler (Roco, 2003). Bu materyallerin boyutları çok küçük olduğundan (özellikle 20 nm'den küçük olanlar) mükemmel optik, manyetik ve kimyasal özellikler gösterir. Metal oksit içeren nanopartiküller, nanomateriyallerin en çok kullanılan grubudur (Chen ve ark., 2014). Ek olarak, fiziksel ve kimyasal özellikleri sadece element bileşimine değil, aynı zamanda yüzey kaplamasına,

sentez ve çevre koşullarına (pH, sıcaklık, oksidasyon ve ışık oluşumu) bağlı olarak değişir (Borm ve ark., 2006). Metal oksit nanopartikülleri (NP), çeşitli ticari ürünlerde en çok kullanılan NP'ler arasındadır ve bu da insan ve çevre sağlığında olumsuz etkiler oluşturmaları endişelerine yol açmaktadır (Aschberger ve ark., 2011). Metal oksit NP'lerinin kullanımının artması, bu parçacıkların su ortamına bırakılmasına neden olmaktadır. NP'lerin çevre ve su organizmalar üzerindeki olumsuz etkileri son yıllarda dikkat çekmektedir (Farre ve ark., 2009).

Yüksek düzeyde termal ve elektriksel iletkenliği olması nedeniyle metal oksit nanopartikülleri arasında CuNP en yaygın kullanılan nanopartiküllerden biridir. Bakır bazlı metal oksit nanopartikülleri (nano CuO) son zamanlarda elektronik ve tedavi biliminde (terapötiklerde) geniş kullanımı nedeniyle büyük önem kazanmıştır; örneğin, nano CuO, ısı transferli nano akışkanlarda, solar hücrelerde, pillerde ve yarı iletkenlerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Ren ve ark., 2009; Bondarenko ve ark., 2013). Bakır oksit nanopartikülleri (nano CuO) antibakteriyel, antiviral ve antifungal özelliklere sahip olması nedeniyle yaygın olarak antimikrobiyal ilaçlarda kullanılmakta ayrıca endüstride iletken filmlerde, yağlayıcı maddelerde ve elektronik cihazlarda kullanılmaktadır (Cheon ve ark., 2012; Longano ve ark., 2012). Nano CuO ayrıca karbon monoksitin oksidasyonunu sağlamak için en umut verici çevresel katalizörler arasındadır (Wang ve ark., 2009). Nanoteknolojideki dünya çapındaki ilerlemeden dolayı son birkaç yıldan beri yoğun nano CuO üretimi ve kullanımı, bu materyalin doğal sulara salınım olasılığını artırmıştır (Kaegi ve ark., 2008).

NP'lerin biyolojik toksisitesi, büyüklük, yüzey alanı ve yüzey modifikasyonu gibi birçok fizikokimyasal özellik ile yakından ilişkilidir (Abdel-Khalek ve ark., 2016). Alıcı suların doğasına bağlı olarak, NP'ler, tek parçacıkların kararlı kolloidal süspansiyonlarını oluşturabilir veya kümelenmiş veya kaynaşmış hale gelebilirler (Nowack ve Bucheli, 2007). Bu özellikler biyolojik sistemlerle olan etkileşimlerini de etkiler; NP'ler hücre zarlarını difüzyon veya endositoz yoluyla geçebilirler ve mitokondri gibi hücre içi organellerde birikebilirler (Lynch ve ark., 2006; Srikanth ve ark., 2016). Son zamanlarda, bakır oksit (CuO) NP'lerin organizmaların hayatta kalması ve büyümesi üzerinde olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir (Nations, ve ark., 2011; Soliman ve ark., 2021). Cu NP toksisitesinin mekanizmaları ve serbest metal iyonunun bulunup bulunmadığı bilinmemektedir. Çözünmüş bir Cu fraksiyonu Cu NP'lerden serbest bırakılmış olabilir (Shaw ve ark., 2012). Gökkuşağı alabalığı ile yapılan bir çalışmada CuSO₄ (100 µg/L), aynı miktarda Cu NP'den daha toksik olduğu saptanmış olup, CuSO₄ % 100 mortaliteye neden olurken, Cu NP'lerin aynı konsantrasyonu 10 gün boyunca sadece % 19 mortaliteye neden olduğu belirtilmiştir (Shaw ve ark., 2012). CuSO₄'ün etkisinin Cu NP'lere kıyasla daha büyük olmasına rağmen, subletal etkileri benzerlik göstermektedir. (Griffitt ve ark., 2007). Bakır nanopartikülleri, geniş bir uygulama yelpazesi ile çözünmeyen bakır formudur (Shaw ve Handy, 2011). Suda çözünmez olmasına rağmen, bakır nanopartikülleri, küçük partikül boyutu nedeniyle çevredeki suya bakır iyonları salgırlar (Shaw ve Handy, 2011). Bakır nanopartiküllerin suda yaşayan organizmalar üzerinde bakır iyonlarına göre farklı etkileri vardır. *Epinephelus coioides*'de bakır nanopartiküllerinin bağırsak

üzerinde solungaç ve karaciğerden daha fazla olumsuz etkisi olduğu bulunmuştur; halbuki bakır sülfat solungaç ve karaciğer üzerinde bağırsaklara göre daha fazla olumsuz etkiye sahiptir (Wang ve ark., 2014; Wang ve ark., 2015). *Danio rerio* embriyoları üzerine iyonik bakır, eşit konsantrasyondaki bakır nanopartiküllerine göre daha az olumsuz etkiye sahiptir (Bai ve ark., 2010). Ayrıca, bakır nanopartikülleri ve iyonik bakır *Oncorhynchus mykiss* dokularına benzer şekilde zarar vermişlerdir (Al-Bairuty ve ark., 2013).

Cu NP'ler, plazma membranını geçerek hücreli organellerle etkileşime girerek oksidatif stres yaratma kabiliyetine sahiptir (Fahmy ve Cormier, 2009; Melegari ve ark., 2013) ve balık karaciğer ve solungaçları gibi dokularında birikebilir (Griffitt ve ark., 2007; Wang ve ark., 2013). Cu NP'lerin çözünmesi ve Cu iyonlarının salınımı, zebra balığı (Griffitt ve ark., 2009;) ve gökkuşağı alabalığında Cu birikimine ve biyoaktiviteye neden olduğu belirtilmiştir (Shaw ve ark., 2012). Cu NP'lerin karaciğerde nekrozu indüklediği ve solungaçlardaki sinüzoidal alanları değiştirdiği gösterilmiştir (Griffitt ve ark., 2007; Al-Bairuty ve ark., 2013). Cu NP'ler normal bronşiyal iyonoregülasyon homeostazisini bozar ve elektrolitlerin kandan solungaç epiteliyle sızmasına (dışarı atılmasına) ve daha sonra kardiyovasküler çökmeler nedeniyle ölüme neden olabilir (Handy, 2003). Bu bakımdan, Cu NP'lerin yenilebilir bir balık kullanarak etkisini araştırılması önemlidir.(Gupta ve ark., 2016).

Metaller absorpsiyon, regülasyon, depolanma ve boşaltım mekanizmalarına göre, çeşitli balık dokuları farklı birikim oranları göstermektedirler. Her dokuda metal konsantrasyonu temel olarak maruz kalan türe (Roach ve ark. 2008), metal çeşidine (Vinodhini ve Narayanan 2008) ve etkide kalma süresine (Grosell ve ark.,2006) bağlı olarak olarak değişir. Birçok balık türünde karaciğer ve böbrek dokusu, metal iyonlarını bağlayan metalotiyoinlerin üretmeleri ve yüksek düzeyde metalleri depolamalarından dolayı genellikle hedef dokulardır. Yüksek metal birikimi, çevreyle direkt temasta olması nedeniyle solungaçlarda da ortaya çıkabilir. Bu dokudaki metal birikimi işlevlerinin azalmasına neden olabilir (Rogers ve ark., 2003).

Solungaçlar, su ile yakın temasta ince ve geniş bir yüzeyi (toplam vücut yüzeyinin yaklaşık % 90'ı) temsil ederler. Gaz alışverişi, iyon regülasyonu ve metabolik atık ürünlerinin atılımı olmak üzere üç temel görevi vardır. Dış ortamla sürekli temastan dolayı, solungaçlar sudaki kirleticilerin ilk hedef dokusudur (Pandey ve ark., 2008) ve suyla taşınan bakırın alınımında en önemli yerdir (Campbell ve ark., 1999). Bakır birikimi ile ilişkili olarak, solungaç epitelinde çeşitli histopatolojik (Sola ve ark. 1995, Arellano ve ark. 2000, Mazon ve ark. 2002) ve fizyolojik parametrelerde değişiklikler meydana gelir (Monteiro ve ark., 2005). Bakır, solungaçlarda mukus üretimine, hücre şişmesine ve epitel kopmasına neden olur (Wood, 2001). Bu organdaki hızlı bakır birikimi, diğer organlardaki birikimden önce olmaktadır (Grosell and Wood, 2002). Bu birikim, solungaç dokusunda Na^+ ve Cl^- için aktif alım mekanizmalarının bozulması (Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinin inhibisyonuyla), solungaç geçirgenliğinde bir artış ve oksidatif stres gibi bir dizi olumsuz etkiye yol açabilmektedir (Eyckmans ve ark., 2010, 2011).

Tatlı suda balıklarında solungaçlarda hızlı bir Cu birikimi olmakta bunu karaciğer, böbrek ve kas gibi diğer dokulardaki birikim izlemektedir (Grosell ve ark., 1998; Grosell ve Wood , 2002). Karaciğer kemikli balıklarda Cu'yu biriktiren merkezi bir organdır ve bu organda biriken Cu'nun büyük bir kısmı safra ile atılır (Grosell ve ark. 1996). Memelilerde olduğu gibi, balıklarda da karaciğer, Cu için önemli bir depolama organıdır (Shearer, 1984). Bununla birlikte, memeliler ile balıklar arasındaki Cu birikim ve toksisitesindeki en büyük fark, balıklarda bakırın ortamdan alınmasının hemen hemen sadece solungaçlar yoluyla olmasıdır (Battaglini ve ark., 1993). Balıkta bu organ toksik hasardan ilk etkilenen organdır ve telafi edici yanıtların başlatılması konusunda kilit organ olarak düşünülmektedir (Lauren ve McDonald, 1987).

Balıklar son derece değerli bir besin kaynağıdır ve son zamanlarda gerek tür ve gerekse miktar olarak gittikçe azaldığı açıktır. Bu azalma nedeniyle balıkların hayatta kalması ve balık ve diğer su canlıları için güvenli olmayan çeşitli kimyasal kirleticilerin düzeylerinin belirlenmesine ilgi gittikçe artmaktadır. Balık, gerekli proteinler, çoklu doymamış yağ asitleri ve yağda eriyen vitaminler gibi besinsel değerleri nedeniyle tüm dünyadaki en önemli besin kaynaklarından biridir (Yılmaz ve ark., 2010). Balıklar, su ortamı ile çok yakın ilişkidirler ve dolayısıyla hücre membranı bileşenlerine de yansıyabilecek fizikokimyasal değişikliklere çok hassastırlar ek olarak, balıklar çevresel değişikliklere karşı çok duyarlıdır ve bu nedenle balıkların sağlık durumu su ekosisteminin durumunu yansıtmaktadır (Çapkin ve ark., 2010; Burkepile ve ark., 2010). *Oreochromis niloticus*, en önemli yenilebilir tatlı su kemikli balık türlerinden biridir. Ayrıca, diğer laboratuvar balıklarıyla kıyaslandığında kirleticilere karşı daha dirençli olmaları, laboratuvar bakımının ve kültürünün kolay olması ve toksikolojik çalışmalarda ksenobiyotiklere olan tepkileri nedeniyle iyi bir biyolojik model olarak kabul edilmektedir.

Ksenobiyotikler ve biyolojik sistemler arasındaki etkileşimler organizma homeostazisinde bozulmalara neden olabilir ve etkilenen organizmalarda homeostaziye koruyan telafi edici mekanizmalar uyarılabilir. Bu tepkiler hematolojik, biyokimyasal ve histolojik değişikliklerde gözlenebilir. Bu biyomarkırlar, nanopartikülleri de içeren çeşitli toksik maddelere maruz bırakılan organizmaların genel sağlık koşullarını ve toksikantların etki şekillerini araştırmak için kullanılmaktadır (Priya ve ark., 2015).

Çevresel kaliteyi ve organizmaların sağlığını izlemede kullanılan biyomarkırlar erken tanı araçları olarak da yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar. Su kirliliğinin izlenmesin de serum metabolitleri, iyon regülasyon bozuklukları, fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikler gibi biyomarkırlar yaygın olarak kullanılmaktadır (DiGiuliove ve ark.,1995; Martinez ve Souza, 2002; Fırat ve Kargin, 2010). Dokunun veya bir organın veya organizma grubundaki değişiklikler, çeşitli biyomarkırlar kullanılarak ölçülür; burada, elektrolitler ve ATPazlar hassas biyomarkırlar olarak düşünülür, çünkü suda bulunan metallerin düşük bir konsantrasyonu bile iyon regülasyonunu bozabilir (McDonald ve ark., 1989; Klinck ve ark., 2005; Sathya ve ark., 2012).

Son zamanlarda biyomarkırlar, organizmaların fizyolojisi üzerine NP'lerin toksisitesini belirlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Klaper ve ark.,2009). Suda yaşayan organizmaların NP'lere maruz kalması, biyokimyasal bozulmalara ve/veya adaptif tepkilere neden olabilir ve bu biyolojik tepkiler veya biyomarkırlar, sudaki organizmaların sağlık durumunu değerlendirmek için kullanılırlar (Zhu ve ark. 2008, Binelli ve ark. 2009; Lu ve ark., 2011).

Osmoregülasyon, ekstraselüler sıvılarda ozmotik dengenin sürdürülmesinde sucul hayvanların adaptasyonu için gerekli olan temel fizyolojik süreçtir. Tatlı su balıklarında bulunan ATPazlar, çevresel stres üreten maddelere karşı çok hassastırlar ve ağır metalleri de içeren ksenobiyotiklere verdiği tepkiler genelde değişmektedir. Balıklar, iyon alımı için iki bölgeye sahiptir: Bunlar solungaçlar (iyon taşıma hücreleri veya klorür hücrelerini içerir) ve bağırsaklardır. İyonlar solungaçlar yoluyla doğrudan sudan ve bağırsaklardan içilen su ile alınmaktadır. Besinler bağırsak emilimi yoluyla diğer bir iyon kaynağı olarak kabul edilmektedirler. Balıklarda iyon regülasyonu, tüm çevre kirleticilerine karşı çok hassastırlar çünkü bu kirleticiler solungaçların iyon işlevlerini bozmasıyla ilk toksik etkilerini yapmaktadırlar (Croke ve McDonald, 2002). Ortamda düşük seviyelerde bile, suda taşınan bakır iyonları (Cu^{+2}) tatlı su organizmaları için toksiktir ve solungaç gibi hedef organlarda histo-morfolojik değişikliklere neden olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir (Griffitt ve ark., 2009). Bu hasar, balık performansını ve sağlığını olumsuz yönde etkileyebilecek gaz alışverişini, Na^+ ve Cl^- homeostazını ve azotlu atık atılımını bozabilmektedir (Grosell ve ark., 2012).

Su organizmalarında, hücre içi ve hücre dışı iyon regülasyonu için sabit iç iyon konsantrasyonunun sürdürülmesi gereklidir (Mayer ve ark., 1992). Sodyum, potasyum ve kalsiyum gibi inorganik iyonlar, bir organizmanın normal metabolik / fizyolojik işlevi için önemlidir. Na^+ ve Cl^- sırasıyla hücre dışı sıvının ana katyonu ve anyonudur; K^+ , hücre içi sıvının ana katyondur (Forstner ve Wittman, 1983). Bu iyonların düzeylerinde herhangi bir dengesizlik, fizyolojik aktivitelerdeki bozulmayı göstermektedir. (Sathya ve ark., 2012). Na^+ ve K^+ 'nın organizmalar için gerekli olduğu ve fizyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Na^+ ve K^+ dengesi, hücre süzme basıncı ve sinir uyarılma yeteneğini korumak için önemlidir. Ca^{+2} çoğunlukla endoplazmik retikulum ve mitokondrinin depolarındaki hücre dışı Ca^{+2} veya hücre içi Ca^{+2} 'den sağlanır ve ayrıca nörolojik bozukluklara katılır ve sinyal iletim yollarına sinyal gönderir (Yamakage ve Namiki, 2002; Ohashi ve ark., 2009). İkinci bir haberci olarak Ca^{+2} , hücrelerde metabolizma, nekroz, apoptoz ve taşınmayı düzenler (Pozzan ve ark., 1994; Cummings ve ark., 2004). Organizmalarda ağır metaller ile Na^+ , K^+ , Ca^{++} ve Mg^{++} gibi iyonların derişimleri arasında sıkı bir etkileşim olduğu belirlenmiştir (Astorga-Espana ve ark., 1999). Alüminyum etkisinde *Salvelinus namaychus*'da intraselüler elektrolitler olan Ca^{++} ve K^+ olumsuz etkilenmiş, ekstraselüler iyonlar olan Na^+ ve Cl^- ise metalin etkisinde iyon regülasyonunun bozulması nedeni ile vücut iyon kaybı en fazla ve hızlı olan iyonlar olarak saptanmıştır (Gunn ve Noakos 1987). Alüminyum ve düşük pH'ların etkisine bırakılan *Salvelinus fontinalis*'de tüm vücut Na^+ , Ca^{++} , K^+ , Mg^{++} ve Cl^- iyonlarının azaldığı bildirilmiştir (Cleveland ve ark.1991). *Salmo gairdneri*'nin Al ve pH etkisinde solungaç

epiteli üzerinde biriken Al'nin buradaki enzimlerle rekabete girerek, elektrolit alınımindan sorumlu olan Na-K-ATPazı fonksiyonunu engelleyerek iyon kaybına neden olduğu belirlenmiştir (Dietrich ve Schlatter, 1989). Gökkuşluğu alabalığında, akut Cu maruziyetinin sürekli olarak Na⁺ kayıplarını artırmakta ve Na⁺ alımını engelmektedir (Chowdhury ve ark., 2016). Tüm vücut Na⁺ düzeylerinin azalmasına rağmen, akut Cu maruziyeti zebra balıklarında (*D. rerio*) Na⁺ alımını engellemez, ancak Ca⁺² alımını önemli ölçüde azalttığı belirtilmiştir (Alsop ve Wood, 2011).

Organizmalarda ATP az düzeyindeki değişikliklerin belirlenmesi çevresel kirlenmelerin neden olduğu zararlı etkilerin belirlenmesinde çok önemlidir ayrıca stres biyomarkırı olarak da kullanılmaktadır. ATP'azlar, iyonların membranlarda taşınmasından sorumludur ve ozmotik basınç, hücre hacmi ve dolayısıyla membran bütünlüğünü düzenlerler (Kundu ve ark., 1995). ATP'azlar tüm hücre zarlarında bulunur ve hücrelerin içindeki iyonik konsantrasyonları düzenlerler. İyon transportundaki temel görevine ek olarak, ATP'az aktivitesi fizyolojik değişikliklerin bir indikatörü olarak kullanılmaktadır. İyon aktarımını gerçekleştiren bu membran enzimleri iyi tanımlanmış ve aktivitelerindeki varyasyonlar kimyasalların toksik etkisini ölçmek için kullanılmaktadır (Cotou ve ark., 2001). ATPaz'lar hücre içi fonksiyonlarda ve tüm fizyolojik aktivitelerde önemli bir rol oynamaktadırlar ve genelde akuatik canlılarda ağır metal toksisitesinin belirlenmesinde indikatör olarak kullanılmaktadır. ATPaz'lar balıklarda özellikle solungaç dokusunda ve kandaki Na⁺ ve K⁺ iyon konsantrasyonlarının dengede kalmasını sağlamaktır. Na⁺ ve K⁺-adenosin trifosfat (Na⁺, K⁺-ATPaz) toksik bileşiklerin sublethal etkilerini incelemek için kullanılan transmembran bir proteindir (Shephard ve Simkiss, 1978; Stagg and Shuttleworth, 1982). Bu protein, hücre içindeki Na⁺ ve K⁺ konsantrasyonlarının korunmasından sorumludur (Price ve ark., 1990). Na⁺, K⁺-ATPaz, hücre zarı boyunca iyon taşınımının ana aracıdır ve balıkların tüm vücut iyon düzenlemesinde merkezi bir rol oynamaktadır (Towle, 1981). Na⁺, K⁺-ATPaz, su organizmalarında kirlilik stresinin potansiyel olarak yararlı bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. (Torreblanca ve ark., 1989). Ca⁺², Mg⁺²-ATP'azlar, birçok metabolik yolda ve çeşitli patolojik ve toksikolojik süreçlerde önemli rol oynayan Ca⁺² ve Mg⁺² iyonlarının regülasyonunda (düzenlenmesinde) rol oynamaktadır (David ve ark., 2014). Mg⁺²-ATPaz enzimi, solungaç epitelyumunda hücre membran bütünlüğü, solungaç geçirgenliğinin stabilizasyonu için gerekli olan Mg⁺²'nin taşınmasında ve oksidatif fosforilasyonda görev görmektedir (Parvez ve ark., 2006). Ca⁺²-ATPaz ise sarkoplazmik retikulum tübüllerinde lokalize olmakta ve ATP hidrolizinden meydana gelen enerjiyi kullanarak sitoplazmadan Ca⁺²'nin uzaklaştırılması ve böylece düşük hücre zarı Ca⁺² içeriğinin korunmasında rol oynar. (Watson ve Beamish, 1980; Saxena ve ark., 2000). ATP'azlar, aktiviteleri için Na⁺, K⁺, Ca⁺² ve Mg⁺² iyonlarına gereksinim duyarlar ve ATP'nin ADP / AMP ve inorganik fosfata parçalanmasıyla enerjinin serbest bırakılmasında rol oynarlar (Begum, 2011).

Osmoregülasyon, metal varlığında Na⁺, K⁺-ATPaz (Ahern ve Morris 1998; Rogers ve ark. 2003) ve Ca⁺²-ATPaz (Rogers ve Wood 2004) enzimlerinin inhibisyonunun bir sonucu olarak özellikle bozulmaktadır bu da iç iyon konsantrasyonlarında değişikliklere neden olur. Bazı metaller

aynı zamanda karbonik anhidraz (CA) işlevine müdahale edebilir (Skaggs ve Henry 2002; Rogers ve ark., 2005) ve dolayısıyla dolaylı olarak Na^+ ve Cl^- iyonlarının alınımını engelleyebilirler (Evans 1987).

Cu toksisitesinin balıklarda Na^+ ve K^+ homeostazisini bozduğu ve larvalarda büyümeyi engellediği bildirilmiştir (McGeer ve ark., 2000; Wu ve ark., 2003). Balıklarda Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi sudaki Cu'nun etkisine karşı çok hassastır (Li et al., 1998, De Boeck ve ark., 2001). Serbest Cu^{+2} 'nin, Na^+ , K^+ -ATPazın SH-gruplarına kovalent olarak bağlandığı gösterilmiş olup, bu da kısa bir süre subletal Cu konsantrasyonlarına maruz kalma durumunda bile proteinde konformasyonel değişikliklere neden olduğu belirtilmiştir (Kone ve ark., 1990). *Cyprinus carpio*'nun solungaçlarda Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinin 0.1 mg/L Cu maruziyetinden dört saat sonra anlamlı bir şekilde azaldığı ve solungaçlardaki Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinin 96 saatte yaklaşık olarak % 65'e düştüğü saptanmıştır (De Boeck ve ark., 2001). Solungaç Na^+ ve Cl^- alımının Cu tarafından inhibisyonu, mortaliteye yol açan bir dizi olay başlatabilmektedir (Grosell ve Wood, 2002). Kemikli balıklarda, Zn, balık solungaçlarına bağlanarak klorit hücrelerinde Ca^{+2} -ATP az ve Na^+ , K^+ -ATP azı inhibe ederek hasar oluşturup toksisite gösterebilmekte ve böylece ciddi osmoregülasyon bozukluklarına yol açabilmektedir (Evans 1987; Sauer ve Watabe 1988). Suda Zn düzeylerindeki artış öncelikli olarak Ca^{+2} alımını etkilemekte ve sonuçta balık da hipokalsemiye neden olmaktadır (Hogstrand ve ark. 1995; Santore ve ark., 2002). Birçok tatlı su organizmasının solungaçları osmoregülatör bir organ olarak hareket eder; önemli iyonlar, Na^+ ve Cl^- , solungaçlar yoluyla aktif şekilde kan ve interstisyel sıvı içine taşınır (Randall ve ark., 2002). Akut Pb etkisinde, gökkuşağı alabalığında Ca^{+2} ve Ca^{+2} -ATPaz aktivitesinin önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir (Rogers and Wood, 2004). Buna ek olarak, Na^+ ve Cl^- alınımının engellendiği ve solungaç Na^+ , K^+ -ATP az aktivitesinin inhibe olduğu belirtilmiştir (Rogers ve ark., 2005). Balıklarda Ag'nin Na^+ , K^+ -ATP az aktivitesini inhibe ederek iyon regülasyonunu bozduğu kaydedilmiştir (Wood ve ark., 1999). Gümüş iyonları, Na^+ , K^+ -ATP azın sülfhidril gruplarına bağlanır ve enzim aktivitesini engeller (Webb ve Wood, 1998) ki buda ölümle sonuçlanabilir.

Cu NP'ler ve CuSO_4 *O. mykiss*'de solungaçlarda Cu birikimine, plazma Na^+ düzeyinin tükenmesine, doku iyon düzeylerinde bozukluklara ve solungaç Na^+ , K^+ -ATP az aktivitesinde azalmaya neden olmuştur (Shaw ve ark., 2012). 48 saat süreyle 0.25 mg/L çözünmüş Cu ve 0.25 veya 1.5 mg/L Cu NP'ye maruz bırakılan gökkuşağı alabalıklarında, solungaç Na^+ , K^+ -ATP az aktivitesinde inhibisyon ve solungaçta hasarlara neden olmuştur (Griffitt ve ark., 2007). Farmen ve ark. (2012), Ag NP'lerin etkisine 48 saat süreyle bıraktıkları (100 μg / L Ag NP) *Salmo salar*'ın solungaç dokusunda Ag NP'lerin biriktiği, solungaç Na^+ , K^+ -ATP az ve plazma Na^+ , K^+ ve Cl^- düzeylerinin azaldığını bildirmişlerdir. Solungaç Na^+ , K^+ -ATP az aktivitesinin, 48 saat boyunca 1 mg/L Ag NP'lerin etkisine bırakılan *O. mykiss*'de inhibe olduğu ve buda tek yönlü Na^+ akışında yüzde % 50'nin üzerinde bir azalmaya neden olduğu belirlenmiştir (Schultz ve ark., 2012).

Suda yaşayan balıklar üzerinde CuO NP'lerin etkileri ve toksik mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir. Bu nedenle bu çalışmada *Oreochromis niloticus*'un solungaç, karaciğer, barsak ve kas dokularında bakır nanopartiküllerinin ve bakır sülfatın farklı derişimlerinin iyon düzeyleri (Na^+ , K^+ , Ca^{+2} ve Mg^{+2}) ve Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.





2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Su ekosistemlerine giren ağır metallerin balıkların doku ve organlarında birikiminin yanı sıra, serumdaki biyokimyasal parametreleri de etkileyerek metabolik ve fizyolojik işlevlerin değişimine neden olmaktadır (Health,1987).

Bakırın subletal derişimlerinin balıklarda büyüme, gelişme ve üreme üzerine olumsuz etkiler yaptığı (Hilmy ve ark., 1985) ve ayrıca kan biyokimyasında değişikliklere neden olduğu bir çok araştırmacı tarafından belirtilmiştir (Dethloff ve ark., 1999; Fırat ve ark., 2011).

Raja erinaceae ve *Myoxocephalus octodecemspinosus* türleri ile yapılan bir çalışmada Cu'nun 7 günlük etki süresinde en fazla Cu birikiminin karaciğerde olduğu, beyin ve kas dokularında ise oldukça düşük düzeyde olduğu belirtilmiştir (Grosell ve ark.,2003).

Oncorhynchus mykiss ile yürütölen bir çalışmada 30 günlük bakır etkisinde en yüksek Cu birikiminin karaciğerde olduğu, bunu böbrek ve solungaçların izlediğı belirlenmiştir (Hollis ve ark., 2001).

Vutukuru ve ark. (2005) *Esomus danricus* ile yürüttükleri bir çalışmada bakırın 1.402 mg/L derişiminin 96 saatlik etki süresinde solungaçlarda belirgin histolojik değişimlere ve hipoksiyaya neden olduğunu belirtmişlerdir.

Reyhan, (2014) Kalsiyum ve zeolitin *Oreochromis niloticus*'un karaciğer, solungaç ve kas dokularında bakır birikimi üzerine etkilerinin inceledikleri bir çalışmada balıkların 5, 10 ve 15 gün sürelerle 1.0 mg/L Cu, 1.0 mg/L Cu+1.0 mg/L Ca, 1.0 mg/L Cu+0.1 g/L Zeolite karışımının etkisine bırakmışlar ve dokularda bakır birikiminin sürenin uzamasıyla arttığını görmüşlerdir. En yüksek bakır birikimi karaciğer dokusunda bulunmuş, bunu solungaç ve kas dokusu izlemiştir. Etkide kalınan tüm sürelerde, *O. niloticus*'un dokularında bakır birikimi kalsiyum ve zeolitin varlığında azalmıştır. Tüm karışımlarda kalsiyum ve zeolit *O. niloticus*'un karaciğer ve solungaç dokularında bakır birikimini istatistiksel olarak önemli ölçüde azalttığını belirtmişlerdir.

Rajkumar ve ark., (2022) *Cyprinus carpio* 'da ZnO NP'nin toksik etkisi ve dokularda birikimi ile ilgili yaptıkları bir çalışmada ZnO NP'nin balıklara toksik etki yaptığını ve dokularda çinko birikimi olduğunu ve birikimin en fazla solungaç dokusunda olduğunu bunu karaciğer ve kas dokusunun izlediğini belirtmişlerdir.

Birçok araştırmacı Cu nanopartiküllerinin balıklar üzerinde akut ve kronik toksik etkilerini inceleyip bunun sonucunda doku birikimine, reaktif oksijen kaynaklı oksidatif strese DNA hasarlarında ve biyokimyasal parametrelerde değişimlere neden olduğunu belirtmişlerdir (Federici ve ark., 2007; Karlsson ve ark., 2008; Khabbazi ve ark., 2015; Abdel-Khalek ve ark., 2016).

Griffit ve ark.,(2009) bakır nanopartikölünün ve bakır sülfatın 100 µg/L derişimlerinin etkisine 48 saat süreyle bırakılan *Danio rerio*'nun solungaç dokusundaki bakır birikiminin olduğu ve Cu NP'nin, CuSO4'e oranla daha fazla biriktiğini belirtmişler.

Zhao ve ark., (2011) CuO'nun nano (<10nm) ve daha büyük formunun (1500 nm) etkilerinin karşılaştırmalı çalışmalarında *C. carpio*'da 30 günlük etki süresinde nano formunda en fazla birikim karaciğere oranla solungaçta olurken, CuO'nun daha büyük formunda ise solungaca oranla karaciğerde birikimin daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

D. rerio'da Cu₂O NP ve CuCl₂'nin 96 saatlik LC50 değerleri karşılaştırıldığında, Cu₂O NP'nin toksisitesinin CuCl₂'nin toksisitesinden daha düşük olduğu ve Cu₂O NP maruziyetinde kalan *D. rerio*'nun karaciğerinde CuCl₂'ye maruz kalanlarla benzer düzeylerde bakır birikiminin olduğu belirlenmiştir (Chen ve ark., 2011).

Shaw ve ark., (2012) *O. mykiss*'de CuSO₄ ve Cu-NP'nin eşdeğer konsantrasyonları ile ilgili yapılan bir çalışmada CuSO₄'ün Cu-NP'nin eşdeğer konsantrasyonuna göre daha akut toksik olduğu görünmüş; 100 µg /l CuSO₄ konsantrasyonu tam mortaliteye neden olurken, aynı Cu-NP konsantrasyonu 10 günlük sürede sadece% 19 mortaliteye neden olmuştur *O. mykiss*'de CuSO₄ ve Cu NP'nin 10 günlük süreyle solungaç ve karaciğer dokusunda bakırın biriktiği ve CuSO₄ 'ün etkisindeki balıklarda Cu NP'ye oranla daha fazla bakır biriktiğini belirtmişlerdir.

Al Bairuty ve ark., (2013) 20 ve 100 µg/L Cu NP ve 20 µg/L Cu SO₄ derişimlerinin etkisine 10 günlük süreyle bırakılan *O.mykiss*'in solungaç dokusunda tüm derişimlerde ve karaciğer dokusunda ise yalnızca 20 µg/L CuSO₄ derişiminde bakırın biriktiği gözlenirken, dalak ve kas dokusunda bir derişimin olmadığını gözlemlenmişlerdir.

Wang ve ark.,(2015) *Epinephelus coiodes* ile yürüttükleri bir çalışmada Cu NP ve CuSO₄'ün 20 ve 100 µg/L derişimlerinin 25 gün süreyle etkisinde solungaç ve karaciğerde bakırın birikiminin bu dokularda hasarlara neden olduğu ve bakır sülfatın bakır oksit nanopartikülünden daha toksik olduğunu belirtmişlerdir.

Lakani ve ark., (2016) *Acipenser baerii* ile yürüttükleri bir çalışmada Cu NP'nin farklı derişimlerine 14 gün süreyle bıraktıkları balıkların solungaç, karaciğer, bağırsak ve kas dokularında bakırın tüm dokulardaki biriktiği ve en fazla birikimin sırasıyla bağırsak>solungaç>karaciğer>kas olduğunu belirtilmişlerdir.

Xiong ve ark., (2011) *D.rerio* ile yürüttükleri bir çalışmada metal oksit nanopartiküllerinin oksidatif stresi artırdığını ve bu nanopartiküllerin metalin diğer formlarına oranla daha fazla oksidatif hasara yol açtığını belirtmişlerdir.

Abdel-Khalek ve ark., (2016) bakırın nano ve daha büyük formlarının kıyaslandığı bir çalışmada CuO 'nun 96 saatlik LC50 değerinin 1/10 ve 1/20'sinin 30 günlük süreyle etkisinde *O. niloticus*'un solungaç ve karaciğer dokularındaki antioksidan enzim aktivitelerini incelemişlerdir. *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda SOD ve CAT aktivitesinde bakırın daha büyük formunda artış gözlenmiş, nano formunda ise bu enzimlerin inhibe olduğu belirtilmiştir. Solungaç ve karaciğerde GPx aktivitesinin bakırın her iki formunda da arttığı belirtilmiştir. Tüm bu veriler ışığında sonuç olarak CuO'nun nano formunun daha toksik olduğu belirtilmiştir.

Tunçsoy,M. (2019), bakır oksit nanopartiküllerinin (CuO NP) 1 ve 5 ppm derişimlerinin 7 günlük süreyle etkisinde *Clarias gariepinus*'un serum glikoz, total protein, albumin, kolesterol, trigliserit düzeyinin belirlenmesi amaçlandığı bir çalışmada, belirlenen süre ve derişimlerde Cu NP etkisinde balıklarda mortalite gözlenmediği, her iki derişimde de serum glikoz ve albümin düzeyleri artarken serum total protein, kolesterol ve trigliserid düzeyleri kontrole oranla azaldığını belirtmiştir.

Hongstrand ve ark. (1999) *Platichthys stellatus*'da solungaç ve bağırsak Na^+/K^+ ATP az aktivitesi üzerine gümüşün etkisiyle ilgili bir çalışmada kotnrol grubuna oranla enzim aktivitesinde bir atış olduğunu belirtmişlerdir. Na^+/K^+ ATP az aktivitesindeki bu artışın Cl ve Na iyonlarındaki bir işlev bozukluğundan kaynaklandığını belirtişlerdir.

Wu ve ark., (2008) bakırın düşük derişimlerinin etkisine farklı sürelerle bıraktıkları *O.niloticus*'da solungaç Na/K-ATPaz aktivitesinin azaldığını belirtmişlerdir. 96 saatte Na/K-ATPaz aktivitesinin kontrol düzeylerine ulaştığını 120-144 saatte ise tekrar azaldığını saptamışlardır.

Monteiro ve ark., (2005) bakırın 400 µg/L derişiminin etkisine buraktıkları *O. niloticus*'da solungaç Na/K-ATPaz aktivitesinin %70 düzeyinde bir azalma gösterdiğini belirtmişlerdir.

Oreochromis mossambicus'da bakır, kadmium ve bunların karışımalarında plazmada Na^+ ve Cl^- düzeylerine bakılmış ve bu iyonların derişimlerinde azalma olduğu belirlenmiştir (Pelgrom ve ark. 1995).

Hoyle ve ark. (2007), besin yoluyla Cu^{+2} 'nin (1500 mg Cu^{+2} /kg k.a.) 30 günlük etkisine bırakılan kedibalığı *C. gariepinus*'un bağırsak, karaciğer ve solungaç dokularında Cu^{+2} düzeyini incelemişlerdir. Bu sürenin sonunda Cu düzeyi sırasıyla 20, 5 ve 4 kat artmış ve doku Na^+ , K^+ düzeyi ile Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinde az miktarda değişiklik olmuştur.

Aluminyum etkisinde *Salvelinus namaychus*'da intraselüler elektrolitler olan Ca^{++} ve K^+ olumsuz etkilenmiş, ekstraseluler iyonlar olan Na^+ ve Cl^- ise metalin etkisinde iyon regülasyonundaki bozulma nedeni ile vücut iyon kaybı en fazla ve hızlı olan iyonlar olarak saptanmıştır (Gunn ve Noakos 1987).

Aluminyum ve düşük pH'ların etkisine bırakılan *Salvelinus fontinalis*'de tüm vücut Na^+ , Ca^{++} , K^+ , Mg^{++} ve Cl^- iyonlarının azaldığı bildirilmiştir (Cleveland ve ark.1991).

Salmo gairdneri'nin Al ve pH etkisinde solungaç epiteli üzerinde biriken Al'un buradaki enzimlerle rekabete girerek, elektrolit alınımından sorumlu olan Na^+/K^+ ATP azı engelleyerek iyon kaybına neden olduğu belirlenmiştir (Dietrich ve Schlatter 1989).

Sahil yengeci *Carcinus means*'da bakırın iyon derişimine etkisi ile ilgili yapılan bir çalışmada bakırın direkt olarak Ca-ATPaz aktivitesini engelleyerek Ca 'un taşınımı azaltmakta, indirekt olarak Na^+ taşınımını engelleyerek Na/Ca oranını bozmaktadır (Bjerregaard ve Visile 1986).

Birçok balık türünde subletal bakır derişimleri ilk olarak plazma Na^+ ve Cl^- konsantrasyonlarını etkiler. *O. mossambicus* 'da bakır, kadmium ve bunların karışımalarında plazmada

Na^+ ve Cl^- düzeylerine bakılmış ve bu iyonların derişimlerinde azalma olduğu belirlenmiştir (Pelgrom ve ark. 1995).

Kuhnert ve ark.,1976, İnvivo Cr^{+6} etkisindeki alabalık *Salmo gairdneri*'nin solungaç dokusunda Na-K-ATPaz aktivitesinde inhibisyon gözlemiştir. Araştırmacılar Cr'nin etkisine bırakılan gökkuşaağı alabalığında osmoregülasyon ve atılım ile ilişkili olan bağırsak, solungaç, böbrek ve karaciğer gibi organlarda Na / K-ATPaz aktivitesi etkilendiğini bildirmişlerdir.

Bakır direkt olarak mitokondrice zengin (MR) hücrelerde nekroza neden olur ve Cu toksitesinin Na^+ ve K^+ homeostazını bozduğu ve larvalarda büyümeyi engellediğı bildirilmiştir (McGeer et al. 2000; Wu ve ark., 2003).

Akut Pb gökkuşaağı alabalığında Ca^{+2} ve Ca^{+2} ATPaz aktivitesini belirgin şekilde düşürerek iyon düzenleyici etkilere neden olmuştur (Rogers and Wood, 2004). Buna ek olarak, Na^+ ve Cl^- alımını ve solungaç Na^+ / K^+ ATPaz aktivitesi inhibe olduğu belirlenmiştir (Rogers ve ark., 2005).

Ag'nin, tatlı su balıklarında ve omurgasızlarda Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesini önleyebildiğı ve Na^+ ve Cl^- alımını azaltarak osmoregülasyonu bozabileceğı gösterilmiştir (Wood ve ark., 1999).

Kundu ve ark., (1995) Cr'nin etkisine bıraktıkları *Bleophthalmus dentatus*'da hem beyinde hem de kasta Na, K -ATPaz önemli bir doz ve süreye bağıli inhibisyon gözlendiğini, beyinde, Ca^{++} ve Mg^{++} 'ye bağıli ATPazlar, inhibisyon gösterdiğini belirtmişlerdir.

Thaker ve ark., (1996) Cr'nin etkisine bıraktıkları *Periophthalmus dips* de solungaç, böbrek ve barsak dokularında Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinin derişim ve süreye bağıli olarak azaldığını belirtmişlerdir.

Yetişkin zebra balıklarında AgNP'lerin solungaç Na / K-ATPaz aktivitesi üzerine etkisiyle ilgili yapılan çalışmada, 16,76 mg / L akut AgNP etkisine 4 gün maruz kaldıktan sonra enzim aktivitesinde anlamlı bir fark olmadığı; bununla birlikte, aktivite, 24 mg/L AgNP'lere iki hafta maruz kaldıktan sonra önemli ölçüde azaldığı saptanmıştır (Katuli ve ark., 2014).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Bu çalışmada deney materyali olarak *Oreochromis niloticus* balıkları kullanılmıştır. Bu balıklar Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi yetiştirme havuzlarından alınarak 3 ay süre ile $25 \pm 1^\circ\text{C}$ sabit sıcaklıkta laboratuvar koşullarına adaptasyonları sağlanmıştır. Bu süre sonunda balıklar 12.12 ± 2.42 cm boy ve 30.15 ± 6.03 gr. ağırlığa ulaşmışlardır. Balıklar, laboratuvar koşullarına adaptasyon ve deney süresince, günde 1 defa (akşam saat 18:00) vücut ağırlıklarının %2'g.'ı kadar hazır balık yemi (Pınar Balık Yemi, Türkiye) ile beslenmişlerdir. Adaptasyon ve deney süresince akvaryumlar merkezi havalandırma sistemi ile havalandırılmış, günde 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık fotoperiyodu uygulanmıştır.

Çizelge 3.1. Deney Ortam Suyunun Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Aydınlanma	: 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık
Toplam Sertlik	: $320,65 \pm 3,213$ ppm CaCO_3
Toplam Alkalinite	: $222,3 \pm 13,223$ mg/L CaCO_3
Çözülmüş Oksijen	: $7,48 \pm 0,123$ mg/L
Suyun Sıcaklığı	: $23,7 \pm 0,258$ $^\circ\text{C}$
pH	: $7,64 \pm 0,035$

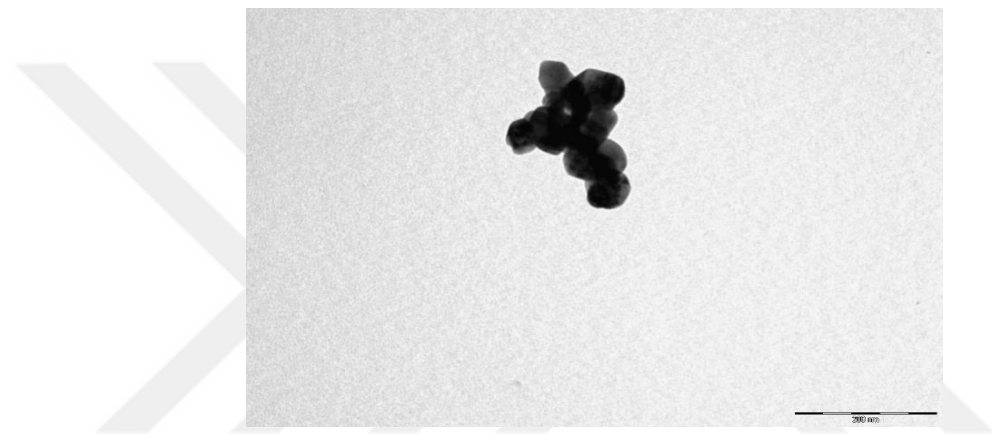
Deneyler iki seri halinde yürütülmüştür. Birinci seride balıklar CuSO_4 'ın 0.1 mg/L Cu ve 1 mg/L Cu derişimlerine 7 ve 21 gün sürelerle bırakılmıştır. İkinci seride CuO NP'nin 0.1 mg/L ve 1 mg/L derişimlerine aynı sürelerle bırakılmıştır. Bu amaçla 40x120x40 cm. boyutlarında ve her birinin içerisinde 18 balık olacak şekilde toplam 5 akvaryum kullanılmıştır. Birinci serideki akvaryumların ikisine de 100 litrelik farklı CuSO_4 derişimleri, ikinci serideki akvaryumların ikisine ise 100 litrelik farklı CuO NP derişimleri konulmuş olup beşinci akvaryuma ise hiç metal içermeyen çeşme suyu konulup kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Deneyler, denenen her derişim için üç tekrar şeklinde yürütülmüş ve her tekrarda üç balık kullanılmıştır. Deneylerde kullanılan Bakıroksit nanopartikül çözeltileri (Sigma Aldrich; CuO; partikül boyutu <50nm) stok çözeltilisinden, bakır çözeltileri ise (1 M Copper (II) sulfate pentahydrate) stok çözeltilisinden seri seyreltme yöntemi ile hazırlanmıştır.

Deney süresince metallerin cama yapışma durumu, çökme ve metallerin buharlaşma olasılığı gibi nedenlerle deney akvaryumlarında kullanılan bakır ve bakır oksit nanopartikül çözeltilerinin derişimlerinde zamanla birlikte bir değişim ya da bozulma olabileceği düşünülerek çözeltiler her gün yeniden hazırlanan stok çözeltilerden uygun seyreltmeler yapılarak yeniden uygulanmıştır.

Belirtilen süreler sonunda balıklar çeşme suyunda iyice yıkanıp kurutma kağıdı ile kurulandıktan sonra disekte edilerek böbrek, bağırsak, kas ve solungaç dokuları izole edilmiştir.

3.1.1. Bakır oksit nanopartikül karakterizasyonu

Deneylerde partikül büyüklüğü 50 nm'den küçük olan bakır oksit nanopartikülü (sigma Aldrich) kullanılmıştır. CuO NP çözeltinin derişimi 100 mg/L olacak şekilde hem ultra saf su hem de çeşme suyu içinde çözülmüştür. Elde edilen karışım analizden hemen önce 15 dakika süreyle ultrasonik banyoda sonikasyona bırakılmıştır. Numuneler NP boyutu ve yüzey yükünün belirlenmesi için analiz edilmiş ve karakteristik özellikleri Transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile stok solüsyon çözeltisinden belirlenmiştir



Şekil 3.1.CuO NP'nin Transmisyon elektron mikroskobu görüntüsü

Hidrodinamik çap ve zeta potansiyeli belirlemek için ultra saf su ve çeşme suyu ile 100 mg/L CuO NP çözeltisi hazırlanmış Zetasizer Nano ZS analizatörü kullanılarak (Malvern Instruments Inc., UK) sırasıyla dinamik ışık saçılımı (DLS) ve elektroforetik ışık saçılımı (ELS) ile belirlenmiştir.

Çizelge 3.2. CuO nanopartikül karakterizasyonu (Ortalalama±Standart hata)

Partikül özellikleri	Metod	Ultra saf su	Çeşme suyu
Boyut (nm)	TEM	<50nm ^a	-
Partikül Boyut dağılımı (nm)	TEM	33.0±8.3 ^b	-
Hidrodinamik çap (nm)	DLS	586.6±89.4 ^b	812.8±98.8 ^b
Zeta Potansiyeli (mV)	ELS	-17.1±0.4 ^b	-18.5±2.1 ^b

^a Sigma Aldrich

^b 100 mg/L CuO NP

3.2. Cihazlar ve Kimyasal Maddeler

3.2.1. Cihazlar

1. Buz makinesi (HOSHIZAKI ICE MAKER)
2. -80 °C Derin dondurucu (Lozone CFC)
3. -20 °C Derin Dondurucu (UĞUR Derin Dondurucu)
4. Dijital pH metre (EUTECH INSTRUMENTS EcoScan Hand - Held Series)
5. Distile su cihazı (mes mp MINIpure)
6. Hassas terazi (DENVER INSTRUMENT)
7. Homojenizatör (IKA T18 basic ULTRA - TURRAX)
8. Manyetik karıştırıcı (VELP - Scientifica)
9. Oksijen metre (Oxi 315i / SET)
10. Otomatik pipet (BIOHIT PROLINE PIPETTE) - (AXYGEN-AXYPET autoclavable)
11. Soğutmalı santrifüj (Hettich ZENTRIFUGEN UNIVERSAL 320R)
12. Benmari (MEMMERT)
13. Terazi (SCALTEC SPB53)
14. UV spektrofotometre (OPTIZEN 322OUV)
15. Vortex (VELP SCIENTIFICA)
16. Etüv (MEMMERT)
17. Çeker ocak
18. Atomic absorpsiyon spektrofometresi

3.2.2. Kimyasal Maddeler

- | | |
|--|-----------------|
| 1. Bakıroksit | (Sigma Aldrich) |
| 2. Bakırnanopartikül | (Sigma Aldrich) |
| 3. Nitrik asit (HNO ₃ - %65'lik) | (MERCK) |
| 4. Perklorik asit (HClO ₄ - %60) | (MERCK) |
| 5. Sülrürük asit (H ₂ SO ₄ - %98) | (MERCK) |
| 6. Sucrose (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁) | (MERCK) |
| 7. Trizma-Baz (C ₄ H ₁₁ NO ₃) | (SIGMA) |
| 8. EDTA (CH ₃ COOH) ₄ N ₂ C ₂ H ₄) | (SIGMA) |
| 9. Polioksietilen 10 Lauril eter | (MERCK) |
| 10. Molibdik asit (MbO ₃) | (SIGMA) |
| 11. Amonyum molibdat | (MERCK) |
| 12. Sodyum Hidroksit (NaOH) | (MERCK) |
| 13. Sodyum Klorür (NaCl) | (MERCK) |

14. Potasyum Klorür (KCL)	(MERCK)
15. MgCl ₂	(MERCK)
16. ATP	(SIGMA)
17. Ouabain	(SIGMA)
18. Tris	(SIGMA)
19. KH ₂ PO ₄	(MERCK)
20. Alkali Na ₂ CO ₃ Çözeltisi	(MERCK)
21. CuSO ₄ .5H ₂ O	(MERCK)
22. Na-K tartarat	(MERCK)
23. Folin-Ciocalteu	(MERCK)
24. Calcium chloride	(AK KIMYA)
25. Ethylene glycol-O,O-bis (2-aminoethyl)	(Alfa Aesar)

3.3. Metod

3.3.1. Doku birikimi

Alınan doku ve organlar etüvde 150°C 'de 48 saat süreyle kurumaya bırakılmışlardır. Etüvden çıkarılan doku ve organlar, hassas terazide kuru ağırlıkları alındıktan sonra cam tüpler içerisine alınarak üzerlerine 2 mL nitrik asit (Merck,%65, Ö.A.1.40) ve 1 mL perklorik asit (Merck,%60,Ö.A.1.53) eklenmiş ve çeker ocakta 120°C'de 4 saat süreyle yakılmıştır. Yakma işlemi tamamlanan örnekler daha sonra oda sıcaklığına yakın bir sıcaklığa gelinceye kadar bekletilip polietilen tüplere aktarılmış ve üzerleri damıtık su ile 5 ml'ye tamamlanarak ağır metal birikimi analizine hazır hale getirilmiştir. Doku ve organlardaki ağır metal birikimleri ICP-MS spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir.

3.3.2. Doku Homojenatların Hazırlanışı

Na⁺/K⁺ ATPaz enzim aktivitesinin belirlenmesi için -80°C buz makinesinden çıkartılan dokular üzerine ağırlıklarının 1/10'u oranında homojenizasyon tamponu eklenerek (250 mM sukroz, 20mM Trizma - Baz, 1mM EDTA - pH 7.8) ile 9000 rpm'de 3 dk süreyle içerisinde kırık buz bulunan cam beherde homojenize edildi. Ependorf tüplerine aktarılan homojenatlar 13.000 g 'de +4°C'de 20 dk santrifüj edildi ve elde edilen süpernatantlarda Na⁺/K⁺ ATPaz enzim aktivitesi ve protein tayini spektrofotometrik yöntemlerle belirlendi.

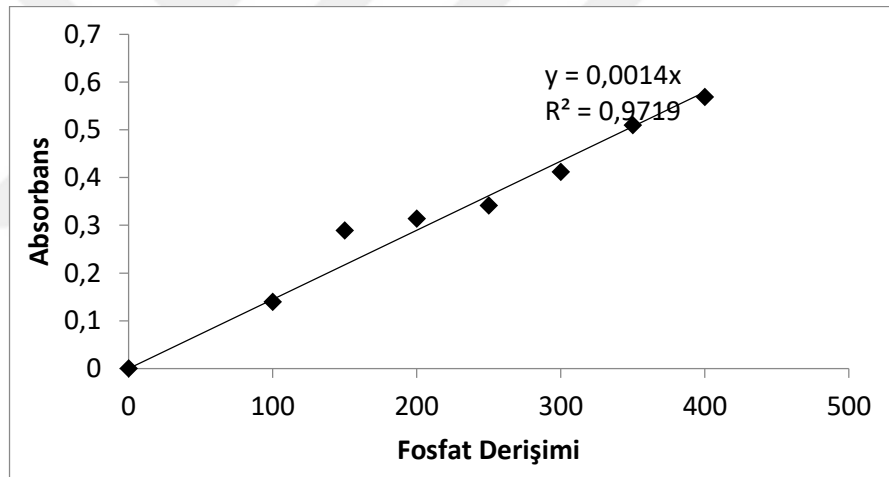
3.3.3. İnorganik Fosfat Tayini

Prensip: İnorganik fosfat tayini, ATP'den açığa çıkan Pi'nin Polioksietilen 10 Lauril eter ile fosfomolibdatın oluşturduğu sarı renkli kompleksin absorbansının 390 nm'de ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Atkinson ve ark., 1973).

Ayırıcılar:

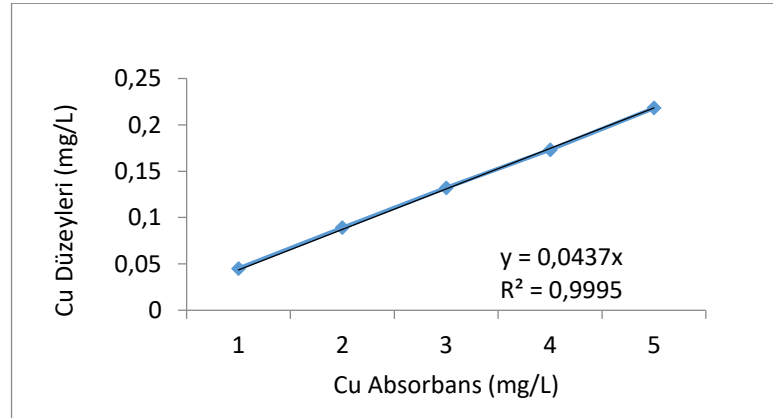
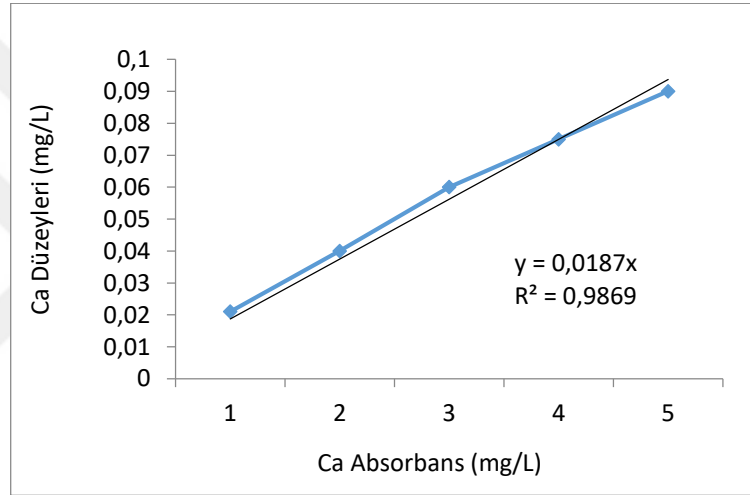
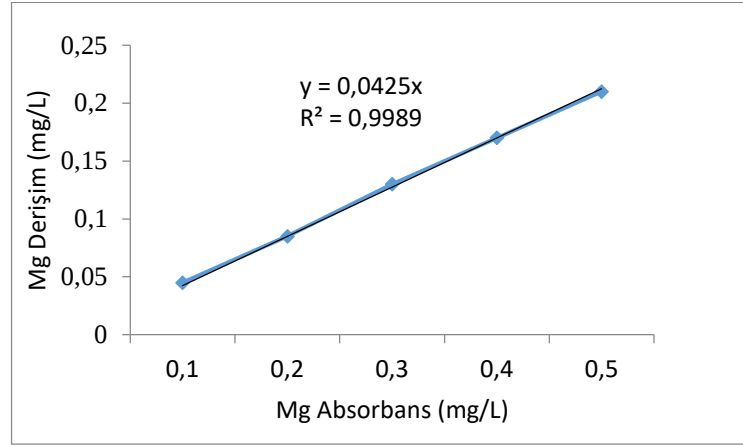
1. %5 Polioksietilen 10 Lauril eter
2. %2 Amonyum molibdat
3. Ana ayıraç: 10 mL %5 Polioksietilen 10 Lauril eter, 25 mL % 2 Molibdik asit ve 65 mL saf su karıştırılarak hazırlanmıştır.

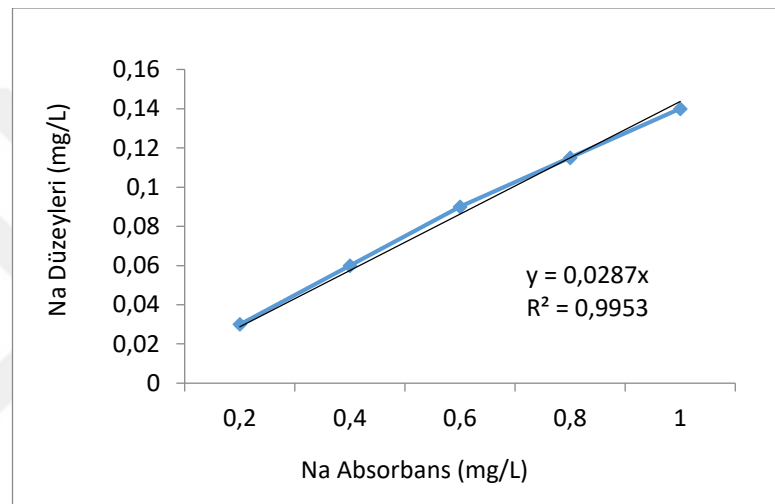
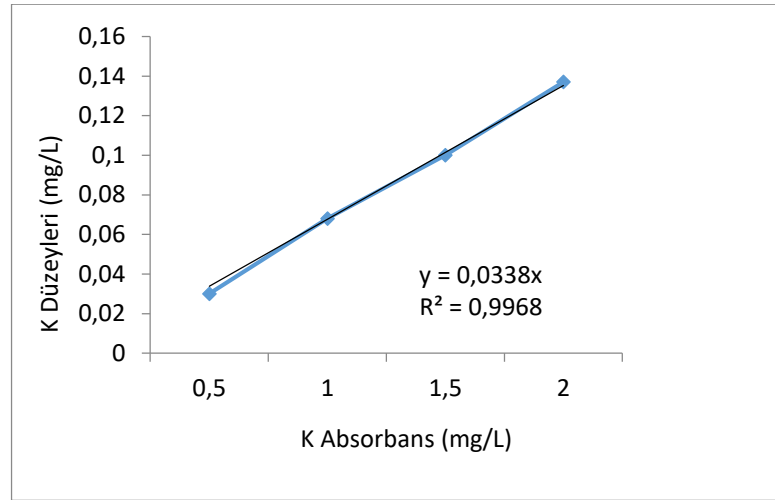
Yöntem: Na^+/K^+ ATPaz için inkübasyon ortamı pH:7.7’de 100 mM NaCl, 20 mM KCL, 4 mM MgCl_2 , 3mM ATP, 1mM ouabain ve 40 mM tris baz olacak şekilde hazırlanıp 37°C’de 5 dakika su banyosunda tutulmuştur. Deney tüplerine 3 mL ana ayıraç konulduktan sonra 10 dakika oda sıcaklığında bekletilerek 390 nm dalga boyunda açığa çıkan sarı renkli kompleksin absorbansının ölçülmesiyle inorganik fosfat miktarı belirlenmiştir. Sonuçlar 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 μM KH_2PO_4 çözeltisinden hazırlanarak elde edilen standart eğri üzerinden değerlendirilmiştir. Konuyla ilgili yapılan çalışmalar da dikkate alınarak (Sunny ve Oommen, 2001; Guynn ve ark., 2002) *O. niloticus*’un karaciğer, bağırsak, solungaç ve kas dokularındaki Na^+/K^+ ATPaz enzim aktivitesi saptanmıştır.



Şekil 3.2. Fosfat derişimi ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki.

İyon Düzeyleri Grafikleri





3.3.4. Na⁺/K⁺ ATPaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Çizelge 3.3. Na⁺/K⁺ ATPaz Yöntemi

	(Total-ATPaz)	(Mg-ATPaz)	Ör Kör	ATP Kör	Kör
-Ouabain inkb ortamı	870 µL	---	870 µL	870 µL	870 µL
+ Ouabain inkb ortamı	---	870 µL	---	---	---
Örnek	30 µL	30 µL	---	30 µL	---
H ₂ O	---	---	30 µL	100 µL	130 µL
37°C’de 5dakika inkübe edilir.					
ATP	100µL	100µL	100µL	---	---
37°C’de 30 dakika inkübe edilir.					
500 µL soğuk saf su (+4°C) eklenir.					

Spektrofotometrede, 390 nm dalga boyunda ATPaz ve kör tüplerinin absorbans değerleri ölçülmüştür.

Hesaplama: Na⁺/K⁺ ATPaz aktivitesi, Toplam-ATPaz (ouabain içermeyen) aktivitesinden Mg²⁺ ATPaz (Ouabain içeren) aktivitesinin çıkarılması ile hesaplanmıştır.

$$\text{ATPaz aktivitesi} = \frac{\text{OD}/0,0014 \times 4,5 \text{ (mL)}}{1000 \times 0,03 \text{ (mL)} \times 0,5 \text{ (sa.)} \times \text{mg prot./mL}}$$

$$=\mu\text{mol Pi/mg prot./sa.}$$

$$*=\text{İnorganik fosfat regresyon eşitliği (y=0,0014x)}$$

3.3.5. Protein Yöntemi

Homojenize edilen böbrek, bağırsak ve kas örnekleri santrifüj edildikten sonra elde edilen supernatantlar Lowry metodu (Lowry ve ark., 1951) ile protein analizi yapılmıştır.

Proteinler alkali ortamda bakır sülfat ilavesiyle fosfotungstik-fosfomolibdik asidi redükleyerek mavi renk verirler. Oluşan bu renkli bileşiğin absorbansı spektrofotometrede 750nm dalga boyunda ölçülerek kantitatif olarak protein miktarları tespit edilir (Lowry ve ark., 1951).

Ayır   lar:

1. Alkali Na₂CO₃   zeltisi

2. Bakır Sülfat-Sodyum Potasyum Tartarat   zeltisi

%1 CuSO₄.5H₂O

%2 Na-K tartarat

3. Alkali   zelti (Günlük olarak hazırlanır.): 50 mL alkali Na₂CO₃   zeltisi 1 mL Bakır Sülfat-Sodyum Potasyum Tartarat   zeltisi ile karıştırılarak hazırlanır.

4. Folin - Ciocalteu Ayıracı: 1mL Folin-Ciocalteu, 1.5 saf su ile seyreltilerek hazırlanır.

Yöntem

Çizelge 3.4. Lowry Yöntemi ile Protein Tayini

��zeltiler	K��r (mL)	��rnek (mL)
Saf su	0.3	-
��rnek	-	0.3
Alkali ��zeltisi	3.0	3.0
Oda sıcaklığında 15 dakika bekletilir.		
Folin-Ciocalteu	0.3	0.3

Oda ısısında 30 dakika bekletildikten sonra spektrofotometrede 750 nm’de absorbands değerleri   l  l  r. Örneklerin içerdiği protein miktarları sığır serum albumini kullanılarak hazırlanan standart grafikten değerlendirilir.

3.3.6. İstatistik

Deneylerden elde edilen verilerin istatistiksel analizleri Microsoft Office Excel 2012 programı ile ‘‘Regresyon analizi’’ ve SPSS 21.0 bilgisayar paket programı kullanılarak ‘‘Student-Newman Keul’s Test (SNK)’’ testleri uygulanarak yapılmıştır.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bakır Birikimi

Bu çalışmada; CuO NP ve CuSO₄ etkisine 7 ve 21 gün sürelerle bırakılan *Oreochromis niloticus*'un solungaç, karaciğer, barsak ve kas dokularında bakır birikimi ile bakır nanopartiküllerinin ve bakır sülfatın farklı derişimlerinin dokularda iyon düzeyleri (Na⁺, K⁺, Ca⁺² ve Mg⁺²) ve Na⁺/K⁺-ATPaz aktivitesi üzerine etkileri araştırılmıştır.

7 ve 21 gün sürelerde ve yüksek derişimlerde Cu NP ve CuSO₄ etkisinde balıklarda ölüm gözlenmemiştir. CuO NP ve CuSO₄ etkisinde balıklarda besin alınımında azalma, yüzme hareketlerinde bozulma, solungaç ve kuyruk yüzgeçlerinde koyulaşma gibi bazı morfolojik ve davranış değişiklikleri belirlenmiştir.

O. niloticus 'da belirlenen derişim ve sürelerde bir doku için üç tekrarlı olarak saptanan bakır düzeylerinin aritmetik ortalamaları ve standart hataları çizelge 4.1-2'de verilmiştir. Belirli bir süre sonunda Cu ONP ve CuSO₄ ve aynı derişimde bakır birikimi bakımından dokular arasındaki ayrımı belirlemek amacı ile veriler SNK testi (Student Newman Keul's Test) ile analiz edilmiş ve sonuçlar çizelge 4.1-2'de verilmiştir. Bu çizelgelerde a, b ve c harfleri derişimlerin etkisini göstermek, x, y, z ve t harfleri dokular arasındaki ayrımı göstermek amacıyla kullanılmıştır. Çizelgelerde farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistik ayrım vardır.

O. niloticus 'da 7 günlük süre sonunda CuSO₄ etkisinde karaciğer Cu birikimi kontrole oranla artış göstermiş ve bu artış 1.0 mg/L'lik derişimde istatistik ayrım göstermiştir (Çizelge 4.1.; P<0.05). CuSO₄ etkisinde bağırsak ve solungaç dokularında Cu birikimi tüm derişimlerde kontrole oranla artış göstermiştir (P<0.05). Bu artış derişim artışına paralel olarak daha yüksek olmuştur. CuSO₄ etkisinde kas dokusunda Cu birikimi tüm derişimlerde kontrole oranla herhangi bir değişim göstermemiştir (P>0.05).

O. niloticus 'da 7 günlük süre sonunda CuSO₄ etkisinde bakır birikimi bakımından doku ve organlar arasında önemli istatistik ayrım saptanmıştır (Çizelge 4.1. ; P<0.05). Denenen her iki derişimde de bakır birikimi en fazla karaciğerde olmuş bunu sırasıyla bağırsak, solungaç ve kas dokusu izlemiştir.

Çizelge 4.1. CuO NP ve CuSO₄'ün etkisine 7 gün süre ile bırakılan *O. niloticus* 'un dokularında bakır birikimi (µg/g k.a.).

DERİŞİM (mg/L)	DOKULAR			
	Karaciğer $\bar{X} \pm s\bar{x}$ *	Bağırsak $\bar{X} \pm s\bar{x}$ *	Solungaç $\bar{X} \pm s\bar{x}$ *	Kas $\bar{X} \pm s\bar{x}$ *
Kontrol	444.4±10.9 ax	21.80±0.73 ay	7.35±1.34 az	4.10±0.76 az
0.1 Cu SO ₄	451.8±4.66 ax	86.21±2.77 by	14.25±2.54 bz	4.47±1.22 at
1.0 Cu SO ₄	770.1±52.6 bx	107.2±8.37 cy	86.95±1.18 cy	5.84±0.89 az
Kontrol	444.4±10.9 ax	21.80±0.73 ay	7.35±1.34 az	4.10±0.76 az
0.1 CuO NP	619.7±14.9 bx	94.36±1.35 by	18.60±0.51 az	5.57±1.26 abz
1.0 CuO NP	880.3±50.3 cx	185.1±10.7 cy	117.9±15.7 bz	7.01±0.91 bt

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

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

O. niloticus 'da 7 günlük süre sonunda Cu ONP etkisinde karaciğer Cu birikimi kontrole oranla artış göstermiş ve bu artış derişimler arasında istatistik ayırım göstermiştir (Çizelge 4.1.; P<0.05). Cu ONP etkisinde bağırsak dokusunda Cu birikimi tüm derişimlerde kontrole oranla artış göstermiştir (P<0.05). Bu artış derişim artışına paralel olarak daha yüksek olmuştur. Cu ONP etkisinde solungaç ve kas dokularında bakır birikimi 0.1 mg/L CuO NP derişiminde kontrole oranla herhangi bir değişim göstermezken, 1.0 mg/L CuO NP derişiminde artış göstermiştir.

O. niloticus 'da 7 günlük süre sonunda Cu ONP etkisinde bakır birikimi bakımından doku ve organlar arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir (Çizelge 4.1.; P<0.05). Denenen her iki Cu ONP derişiminin etkisinde de bakır birikimi en fazla karaciğerde olmuş bunu sırasıyla bağırsak, solungaç ve kas dokusu izlemiştir.

O. niloticus 'da 21 günlük süre sonunda CuSO₄ etkisinde karaciğer, bağırsak ve solungaç dokularında bakır birikimi kontrole oranla artış göstermiştir (Çizelge 4.2.; P<0.05). Dokulardaki bakır birikimi derişim artışına paralel olarak daha yüksek olmuştur. CuSO₄ etkisinde kas dokusunda Cu birikimi 1.0 mg/L CuSO₄ ortam derişiminde kontrole oranla bir artış göstermiştir (P<0.05).

O. niloticus 'da 21 günlük süre sonunda CuSO₄ etkisinde bakır birikimi bakımından doku ve organlar arasında önemli istatistik ayırım saptanmıştır (Çizelge 4.2.; P<0.05). Denenen her iki derişimde de bakır birikimi en fazla karaciğerde olmurken en az birikim ise kas dokusunda olduğu saptanmıştır.

O. niloticus 'da 21 günlük süre sonunda Cu ONP etkisinde karaciğer, barsak ve kas dokularında bakır birikimi kontrole oranla artış göstermiş ve bu artış derişimler arasında istatistik

ayrım göstermiştir (Çizelge 4.2.; $P<0.05$). Cu ONP etkisinde solungaç dokusunda bakır birikimi 0.1 mg/L CuO NP derişiminde kontrole oranla herhangi bir değişim göstermezken, 1.0 mg/L CuO NP derişiminde artış göstermiştir.

O. niloticus ‘da 21 günlük süre sonunda Cu ONP etkisinde bakır birikimi bakımından doku ve organlar arasında önemli istatistik ayrım bulunmuştur (Çizelge 4.2.; $P<0.05$). 0.1 mg/L ve 1.0 mg/L CuO NP derişimlerinin etkisinde bakır birikimi en yüksek karaciğerde saptanmış bunu sırasıyla bağırsak, solungaç ve kas dokusu izlemiştir.

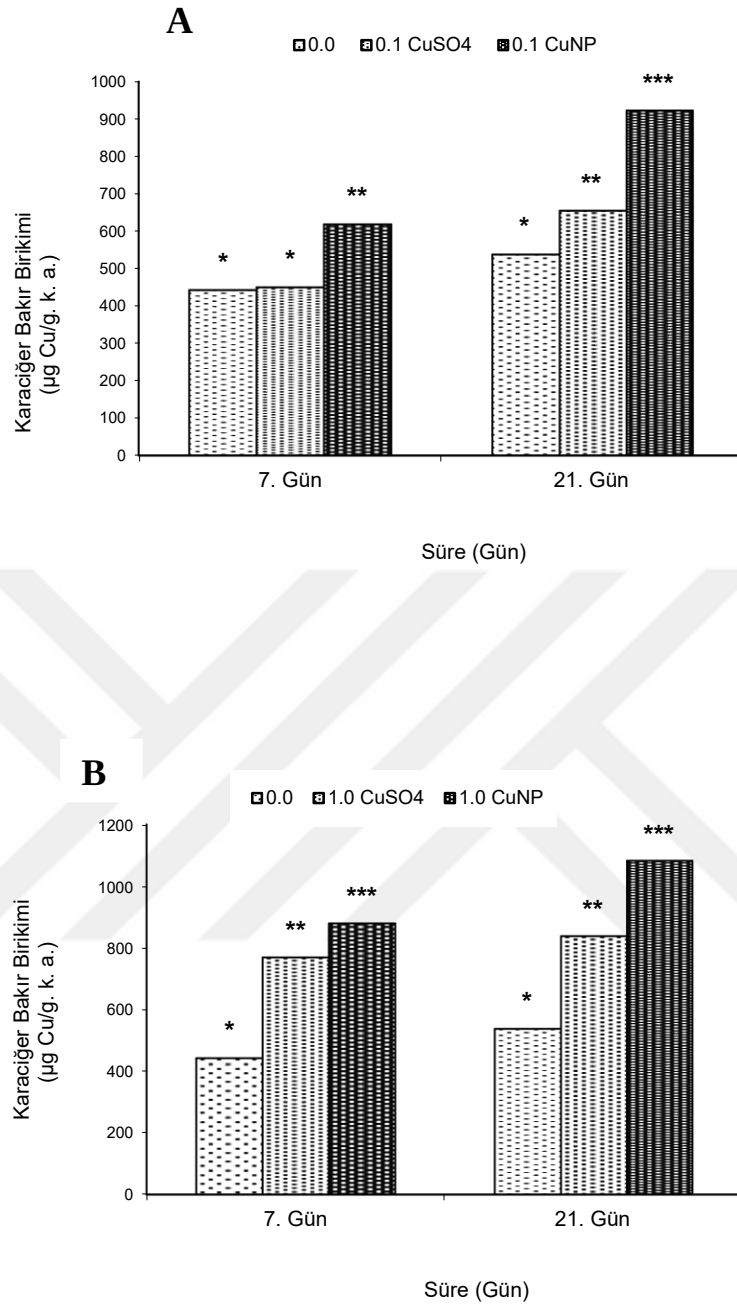
Çizelge 4.2. CuO NP ve CuSO₄’ün etkisine 21 gün süre ile bırakılan *O. niloticus*’un dokularında bakır birikimi (µg/g k.a.).

DERİŞİM (mg/L)	DOKULAR			
	Karaciğer $\bar{X} \pm s\bar{x}$ *	Bağırsak $\bar{X} \pm s\bar{x}$ *	Solungaç $\bar{X} \pm s\bar{x}$ *	Kas $\bar{X} \pm s\bar{x}$ *
Kontrol	539.2±33.8 ax	32.09±1.25 ay	11.30±1.02 ay	4.05±0.33 ay
0.1 Cu SO ₄	655.8±18.0 bx	94.48±4.63 by	17.86±0.91 bz	6.22±1.08 abz
1.0 Cu SO ₄	839.1±19.9 cx	133.7±7.30 cy	93.72±2.67 cz	7.76±1.62 bt
Kontrol	539.2±33.8 ax	32.09±1.25 ay	11.30±1.02 ay	4.05±0.33 ay
0.1 Cu NP	922.8±62.3 bx	179.9±13.07 by	19,09±0.68 az	8.86±0.62 bz
1.0 Cu NP	1082.8±14.2 cx	255.9±27.55 cy	118.2±7.50 bz	11.00±0.34 ct

*SNK; a, b ve c harfler derişimler arası x, y, z ve t harfleri ise dokular 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

CuO NP ve CuSO₄’ın karaciğer dokusundaki birikimleri kıyaslandığında, 0.1 ve 1.0 mg/L’lik derişimlerde 7 ve 21 günlük etki süresinde Cu NP’ün etkisinde kalan balıkların karaciğerindeki bakır birikimi CuSO₄’ün etkisinde kalan balıklardaki bakır birikimine oranla daha fazla olmuştur (Şekil 4.1; $P<0.05$).

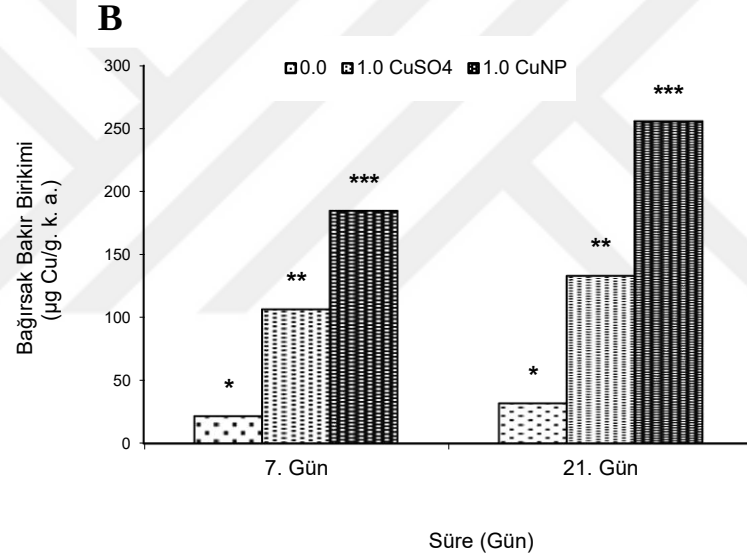
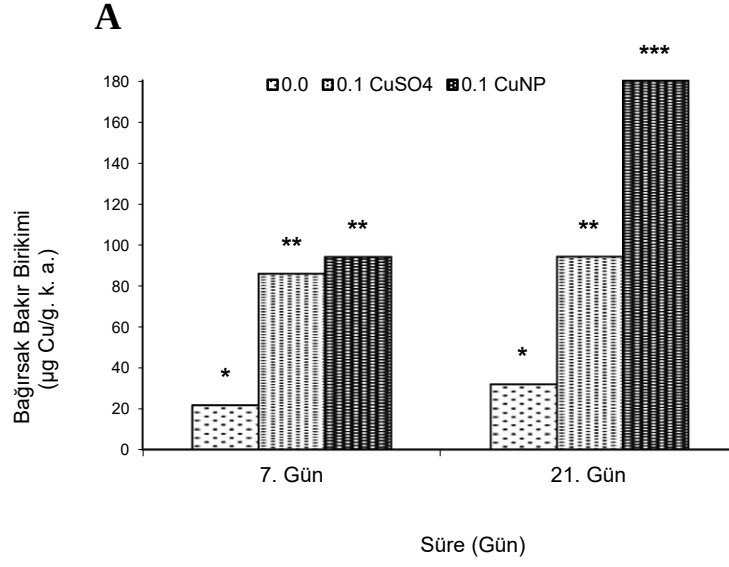


Şekil 4.1. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda süreye bağlı bakır birikiminin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P < 0.05$).

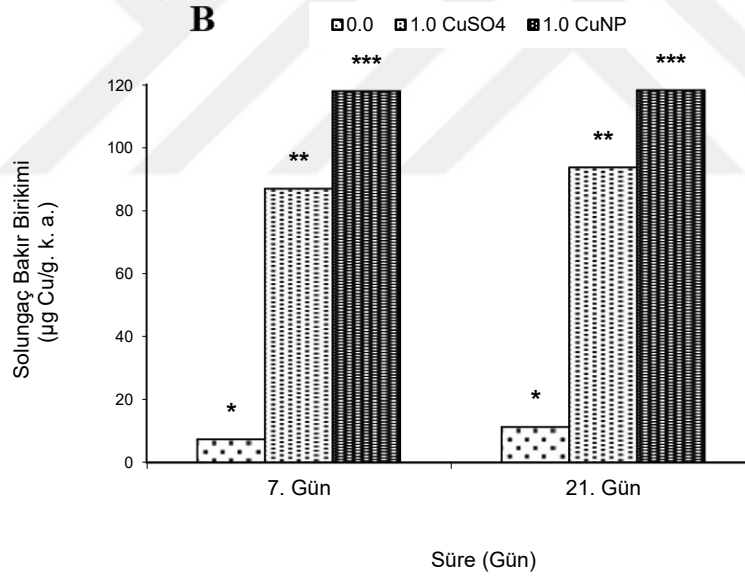
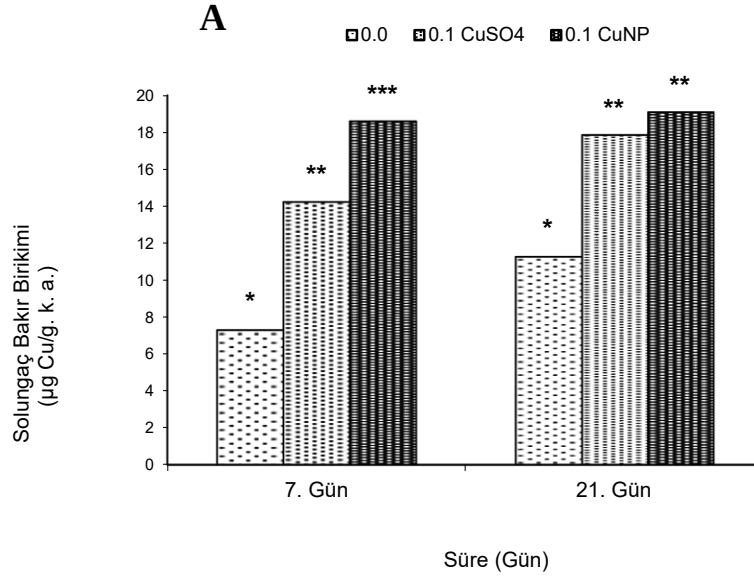
CuO NP ve CuSO₄ bağırsak dokusundaki birikimleri kıyaslandığında, 0.1 mg/L'lik derişimde 7. günde herhangi bir farklılık gözlenmezken (Şekil 4.2.; $P > 0.05$), 21 günlük etki süresinde CuSO₄'teki birikim CuO NP'deki bakır birikimine oranla daha fazla olmuştur ($P < 0.05$). 1.0 mg/L'lik derişimlerde her iki etki süresinde CuO NP etkisinde kalan balıkların bağırsaklarındaki bakır birikimi CuSO₄'ün etkisinde kalan balıklardaki bakır birikimine oranla daha fazla olmuştur ($P < 0.05$).

CuO NP ve CuSO₄'ın solungaç dokusundaki birikimleri kıyaslandığında, 0.1 mg/L'lik derişimde 7 günlük etki süresinde CuO NP'deki birikim CuSO₄'teki bakır birikimine oranla daha fazla olurken ($P<0.05$), 21. günde herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. 1.0 mg/L'lik derişimlerde denenen her iki etki süresinde de CuO NP'ün etkisinde kalan balıkların solungaç dokusundaki bakır birikimi CuSO₄'ün etkisinde kalan balıkların solungaç dokusundaki bakır birikimine oranla daha fazla olmuştur (Şekil 4.3; $P<0.05$).

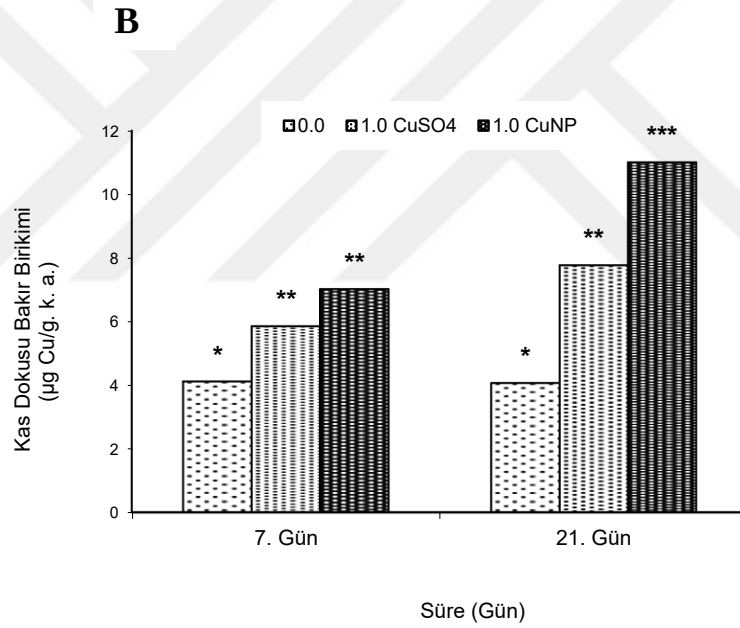
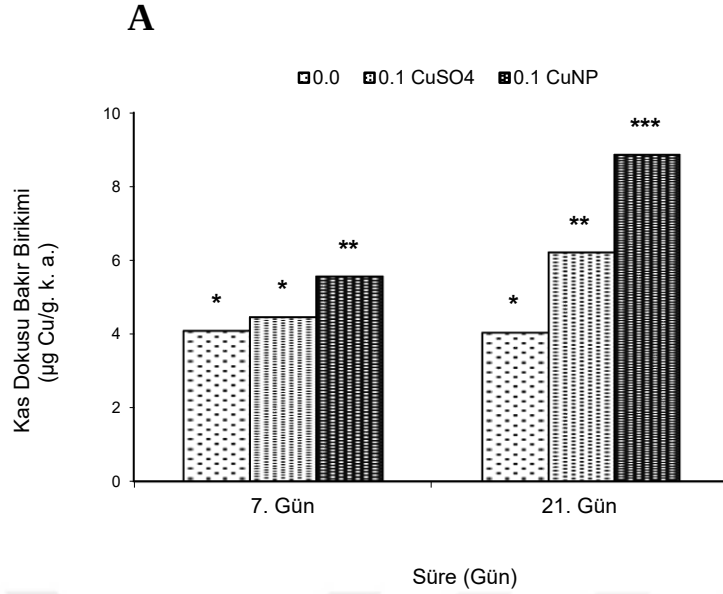
CuO NP ve CuSO₄'ın kas dokusundaki birikimleri kıyaslandığında, 0.1 mg/L'lik derişimlerde 7 ve 21 günlük etki süresinde Cu NP'ün etkisinde kalan balıkların kas dokusundaki bakır birikimi CuSO₄'ün etkisinde kalan balıklardaki bakır birikimine oranla daha fazla olmuştur (Şekil 4.4; $P<0.05$). 1.0 mg/L'lik derişimde CuO NP ve CuSO₄ kas dokusundaki birikimleri kıyaslandığında, 1.0 mg/L'lik derişimde 7. günde herhangi bir farklılık gözlenmezken (Şekil 4.4.; $P>0.05$), 21 günlük etki süresinde CuSO₄'teki birikim CuO NP'deki bakır birikimine oranla daha fazla olmuştur ($P<0.05$).



Şekil 4.2. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda süreye bağılı bakır birikiminin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ($P < 0.05$).



Şekil 4.3. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un solungaç dokusunda süreye bağlı bakır birikiminin karşılaştırılması ($\mu\text{g Cu/g k.a.}$). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ($P < 0.05$).



Şekil 4.4. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un kas dokusunda süreye bağlı bakır birikiminin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P < 0.05).

4.2. İyon Düzeyleri

4.2.1. Sodyum İyon Düzeyleri

O. niloticus'da belirli bir sürede karaciğer, bağırsak, solungaç ve kas dokusu sodyum iyon düzeylerine CuO NP ve CuSO₄'ün ortam derişimlerinin etkilerini belirlemek amacı ile veriler SNK testi (Student Newman Keul's Test) ile analiz edilmiş ve sonuçlar çizelge 4.3-4'de verilmiştir. Bu çizelgelerde a, b ve c harfleri derişimlerin etkisini göstermek amacıyla kullanılmıştır. Çizelgelerde farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistik ayrım vardır

7 gün süreyle CuSO₄ etkisine bırakılan *O. niloticus* 'da karaciğer dokusunda sodyum düzeyi kontrole oranla herhangi bir değişim göstermezken ($P>0,05$), *O. niloticus* 'da 7 günlük süre sonunda bağırsak ve solungaç dokularında 0.1 mg/ L ortam derişiminde ve kas dokusunda ise her iki ortam derişiminde sodyum düzeyinin kontrole oranla azaldığı belirlenmiştir (Çizelge 4.3.; $P<0.05$). *O. niloticus* 'da 7 günlük süre sonunda CuO NP etkisinde karaciğer, barsak, solungaç ve kas dokularında sodyum düzeyi kontrole oranla azalma göstermiş ve bu azalma solungaç ve kas dokularında derişimler arasında istatistik ayırım göstermiştir (Çizelge 4.3.; $P<0.05$).

O. niloticus 'da 21 günlük süre sonunda CuSO₄ etkisinde *O. niloticus* 'da karaciğer ve bağırsak dokularında denenen her iki derişimde solungaç ve kas dokularında ise düşük ortam derişimlerinde sodyum düzeyi kontrole oranla azalma göstermiştir (Çizelge 4.4.; $P<0.05$). 21 gün süre ile CuO NP etkisine bırakılan *O. niloticus* 'da çalışılan tüm dokularda sodyum düzeyi kontrole oranla azalma göstermiş ve bu azalma karaciğer ve solungaç dokularında derişimler arasında istatistik ayırım göstermiştir (Çizelge 4.3.; $P<0.05$).

Çizelge 4.3. CuO NP ve CuSO₄'ün farklı derişimlerinin etkisine 7 gün süre ile bırakılan *O. niloticus*'un dokularında bakırın sodyum düzeyi üzerine etkisi ($\mu\text{g Na}^+/\text{g k.a.}$).

DERİŞİM (mg/L)	DOKULAR							
	Karaciğer		Bağırsak		Solungaç		Kas	
	$\bar{X} \pm \text{sx}$	*	$\bar{X} \pm \text{sx}$	*	$\bar{X} \pm \text{sx}$	*	$\bar{X} \pm \text{sx}$	*
Kontrol	23.23 $\pm$ 0.97	a	34.15 $\pm$ 3.80	a	37.90 $\pm$ 2.19	a	11.57 $\pm$ 0.07	a
0.1 Cu SO ₄	22.91 $\pm$ 2.70	a	24.98 $\pm$ 1.70	b	21.24 $\pm$ 1.26	b	7.98 $\pm$ 0.19	b
1.0 Cu SO ₄	23.07 $\pm$ 1.70	a	31.20 $\pm$ 1.33	a	36.08 $\pm$ 2.42	a	9.17 $\pm$ 0.34	c
Kontrol	23.23 $\pm$ 0.97	a	34.15 $\pm$ 3.80	a	37.90 $\pm$ 2.19	a	11.57 $\pm$ 0.07	a
0.1 CuO NP	18.16 $\pm$ 0.69	b	24.92 $\pm$ 1.38	b	27.50 $\pm$ 0.30	b	9.56 $\pm$ 0.53	b
1.0 CuO NP	20.27 $\pm$ 1.41	b	29.19 $\pm$ 2.00	b	32.91 $\pm$ 3.49	c	10.54 $\pm$ 0.51	c

*SNK; a, b ve c harfler derişimler arasındaki ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır.

Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ($P < 0.05$).

$\bar{X} \pm \text{sx}$: Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata

Çizelge 4.4. CuO NP ve CuSO₄'ün farklı derişimlerinin etkisine 21 gün süre ile bırakılan *O. niloticus*'un dokularında bakırın sodyum düzeyi üzerine etkisi (µg Na⁺/g k.a.).

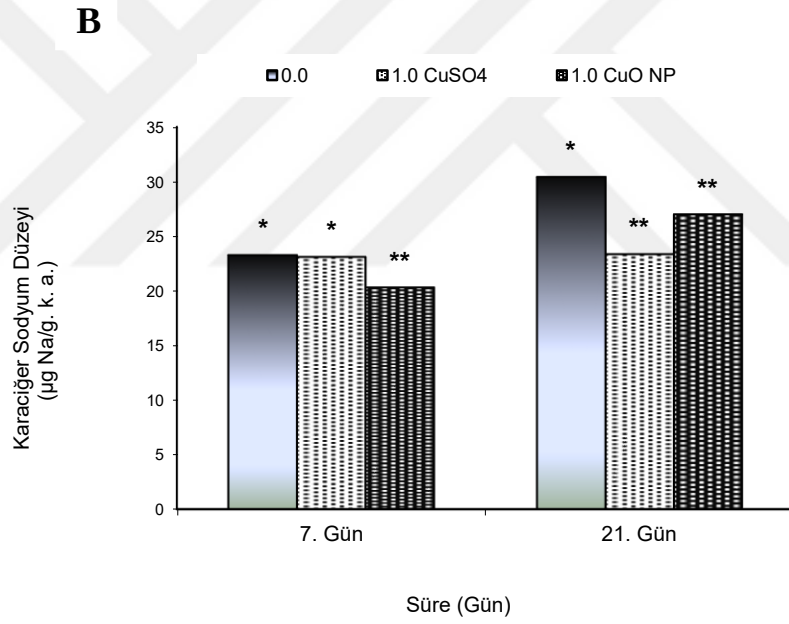
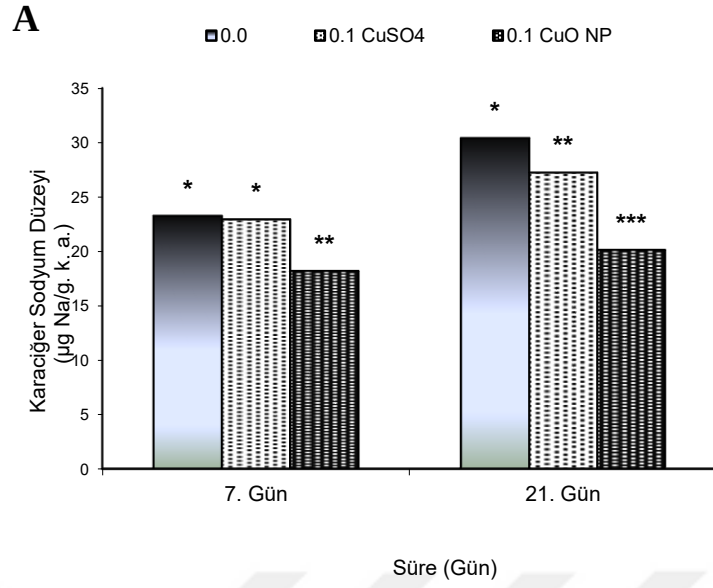
DOKULAR								
DERİŞİM (mg/L)	Karaciğer $\bar{X} \pm s\bar{x}$ *		Bağırsak $\bar{X} \pm s\bar{x}$ *		Solungaç $\bar{X} \pm s\bar{x}$ *		Kas $\bar{X} \pm s\bar{x}$ *	
Kontrol	30.40±2.16	a	37.35±1.53	a	37.51±3.28	a	13.70±2.08	a
0.1 Cu SO ₄	27.22±1.63	b	29.09±1.97	b	25.74±3.28	b	9.52±0.17	b
1.0 Cu SO ₄	23.32±0.81	b	28.94±1.27	b	32.08±1.67	a	11.19±1.27	ab
Kontrol	30.40±2.16	a	37.35±1.53	a	37.51±3.28	a	13.70±2.08	a
0.1 CuO NP	20.10±0.16	b	31.67±2.03	b	25.83±0.80	b	9.09±1.17	b
1.0 CuO NP	26.97±1.83	c	33.81±1.18	b	31.58±0.87	c	10.74±1.11	ab

*SNK; a, b ve c harfler derişimler 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

CuONP ve CuSO₄'ün karaciğer dokusundaki sodyum iyon düzeyleri üzerine etkileri kıyaslandığında 0.1 mg/L'lik derişimde 7 ve 21 günlük etki süresinde CuO NP'ün etkisinde kalan balıkların karaciğerindeki sodyum iyon düzeyleri CuSO₄'ün etkisinde kalan balıklardaki sodyum iyon düzeylerine oranla daha düşük olduğu saptanmıştır (Şekil 4.5; P<0.05). 1.0 mg/L'lik derişimde ise 7 günlük etki süresinde CuO NP'ün etkisinde kalan balıkların karaciğerindeki sodyum iyon düzeyleri CuSO₄'ün etkisinde kalan balıklardaki sodyum iyon düzeylerine oranla daha düşük iken (P<0.05), 21 günlük etki süresinde ise CuO NP ve CuSO₄'ün etkileri arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4.5.; P>0.05).



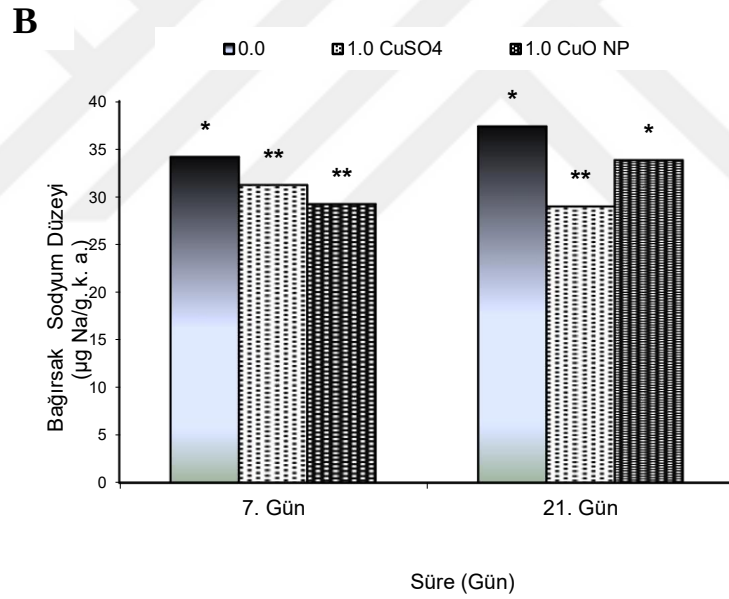
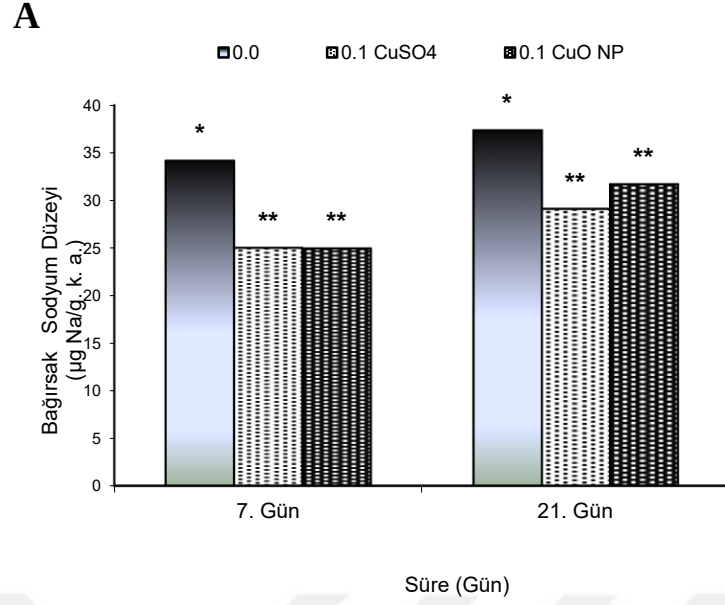
Şekil 4.5. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda süreye bağı sodyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (mg Na/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ($P < 0.05$).

CuO NP ve CuSO₄'ın bağırsak dokusundaki sodyum iyon düzeyleri üzerine etkileri kıyaslandığında, 0.1 mg/L'lik derişimde 7 ve 21 günlük etki süresinde CuO NP ve CuSO₄'ün etkileri arasında herhangi bir farklılık belirlenmemiştir (Şekil 4.6; $P > 0.05$). 1.0 mg/L'lik derişimde 7 günlük etki süresinde CuO NP ve CuSO₄'ün etkisinde kalan balıkların bağırsağındaki sodyum iyon düzeyleri arasında herhangi bir farklılık gözlenmezken (Şekil 4.6; $P > 0.05$), 21 günlük etki süresinde CuO

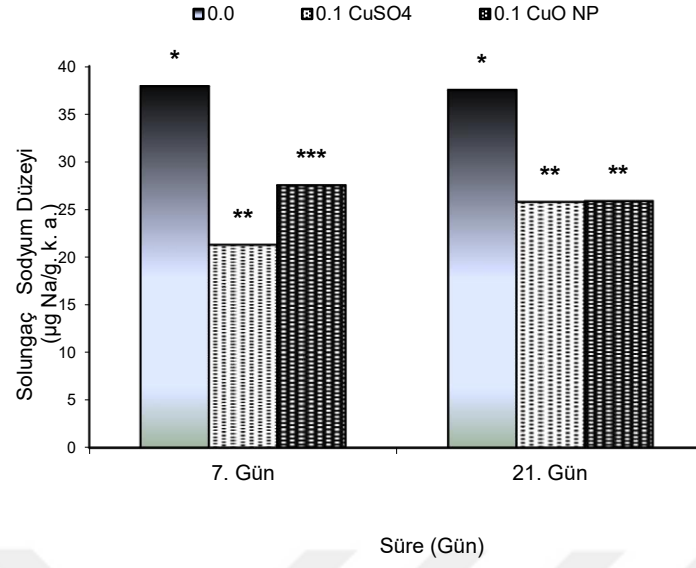
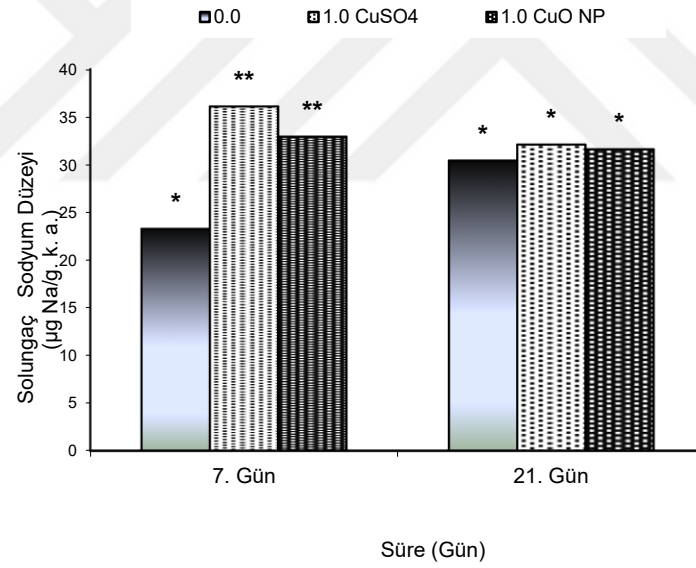
NP'ün etkisinde kalan balıkların bağırsağındaki sodyum iyon düzeyleri CuSO_4 'ün etkisinde kalan balıklardaki sodyum iyon düzeylerine oranla daha fazla olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.6.; $P<0.05$).

CuO NP ve CuSO_4 'ün solungaç dokusundaki sodyum iyon düzeyleri üzerine etkileri kıyaslandığında 0.1 mg/L'lik derişimde ise 7 günlük etki süresinde CuO NP'ün etkisinde kalan balıkların solungaç dokusundaki sodyum iyon düzeyleri CuSO_4 'ün etkisinde kalan balıklardaki sodyum iyon düzeylerine oranla daha fazla iken (Şekil 4.7.; $P<0.05$). 21 günlük etki süresinde ise CuO NP ve CuSO_4 'ün etkileri arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4.7.; $P>0.05$). 1.0 mg/L'lik derişimde 7 ve 21 günlük etki süresinde CuO NP ve CuSO_4 'ün solungaç sodyum iyon düzeyleri arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4.7; $P>0.05$).

CuO NP ve CuSO_4 'ün kas dokusundaki sodyum iyon düzeyleri üzerine etkileri kıyaslandığında 0.1 mg/L'lik derişimde ise 7 günlük etki süresinde CuO NP'ün etkisinde kalan balıkların kas dokusundaki sodyum iyon düzeyleri CuSO_4 'ün etkisinde kalan balıklardaki sodyum iyon düzeylerine oranla daha fazla iken (Şekil 4.8.; $P<0.05$). 21 günlük etki süresinde ise CuO NP ve CuSO_4 'ün etkileri arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4.8.; $P>0.05$). 1.0 mg/L'lik derişimde 7 ve 21 günlük etki süresinde CuO NP ve CuSO_4 'ün kas dokusu sodyum iyon düzeyleri arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4.8; $P>0.05$).

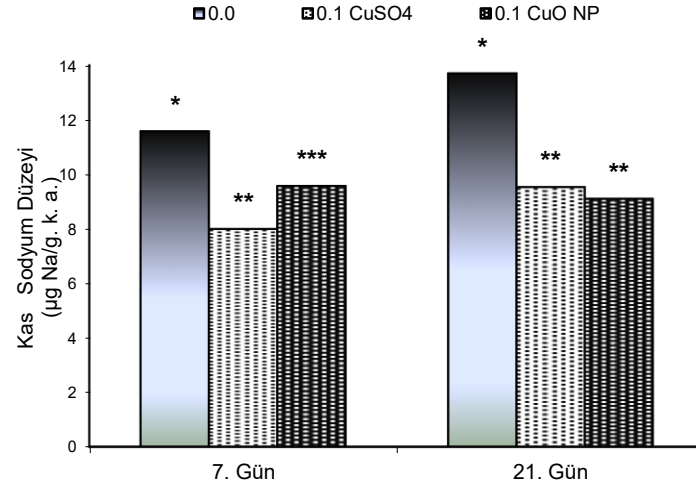


Şekil 4.6. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda süreye bağı sodyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (mg Na/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ($P < 0.05$).

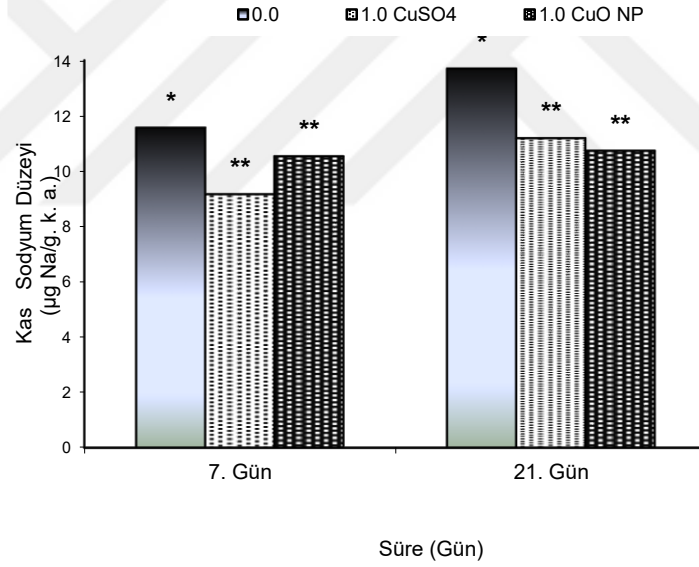
A**B**

Şekil 4.7. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un solungaç dokusunda süreye bağlı sodyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (mg Na/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ($P < 0.05$).

A



B



Şekil 4.8. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un kas dokusunda süreye bağı sodyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (mg Na/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P < 0.05).

4.2.2. Potasyum İyon Düzeyleri

O. niloticus'da belirli bir sürede karaciğer, bağırsak, solungaç ve kas dokusu potasyum iyon düzeyine Cu ONP ve CuSO₄'ün ortam derişimlerinin etkilerini belirlemek amacı ile veriler SNK testi (Student Newman Keul's Test) ile analiz edilmiş ve sonuçlar çizelge 4.5-6'de verilmiştir. Bu çizelgelerde a, b ve c harfleri derişimlerin etkisini göstermek amacıyla kullanılmıştır. Çizelgelerde farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistik ayırım vardır

7 gün süreyle CuSO₄ etkisine bırakılan *O. niloticus* 'da karaciğer, barsak, solungaç ve kas dokularında potasyum düzeyi kontrole oranla azalma göstermiş ve bu azalma bağırsak ve kas dokularında derişimler arasında istatistik ayırım göstermiştir (Çizelge 4.5.; P<0.05). *O. niloticus* 'da 7 günlük süre sonunda CuO NP etkisinde karaciğer, solungaç ve kas dokularında potasyum düzeyi kontrole oranla azalma göstermiş ve bu azalma derişimler arasında istatistik ayırım gösterirken (Çizelge 4.5.; P<0.05), bağırsak dokusunda potasyum düzeyi kontrole oranla herhangi bir değişim göstermemiştir (Çizelge 4.5.; P>0.05).

O. niloticus 'da 21 günlük süre sonunda CuSO₄ etkisinde *O. niloticus* 'da karaciğer, solungaç ve kas dokularında denenen her iki derişimde bağırsak dokusunda ise yüksek ortam derişiminde potasyum düzeyi kontrole oranla azalma göstermiştir (Çizelge 4.6.; P<0.05). 21 gün süre ile CuO NP etkisine bırakılan *O. niloticus* 'da kas dokusu 0.1 mg/L ortam derişimi hariç çalışılan tüm dokularda denenen her iki ortam derişiminde de potasyum düzeyi kontrole oranla azalma göstermiştir (Çizelge 4.6.; P<0.05).

Çizelge 4.5. CuO NP ve CuSO₄'ün farklı derişimlerinin etkisine 7 gün süre ile bırakılan *O. niloticus*'un dokularında bakırın potasyum düzeyi üzerine etkisi (µg K⁺/g k.a.).

DOKULAR						
DERİŞİM (mg/L)	Karaciğer $\bar{X} \pm \text{sx}$	*	Bağırsak $\bar{X} \pm \text{sx}$	*	Solungaç $\bar{X} \pm \text{sx}$	*
Kontrol	304.06±6.20	a	369.00±5.58	a	252.77±8.40	a
0.1 Cu SO ₄	263.30±7.76	b	215.40±4.50	b	159.40±19.19	b
1.0 Cu SO ₄	255.77±14.37	b	291.40±10.41	c	152.80±13.11	b
Kontrol	304.06±6.20	a	369.00±5.58	a	252.77±8.40	a
0.1 CuO NP	280.05±6.26	b	349.40±20.40	a	234.03±3.61	b
1.0 CuO NP	260.73±2.70	c	360.23±4.02	a	220.00±6.38	c

*SNK; a, b ve c harfler derişimler arasındaki ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P < 0.05).

$\bar{X} \pm \text{sx}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

Çizelge 4.6. CuO NP ve CuSO₄'ün farklı derişimlerinin etkisine 21 gün süre ile bırakılan *O. niloticus*'un dokularında bakırın potasyum düzeyi üzerine etkisi (µg K⁺/g k.a.).

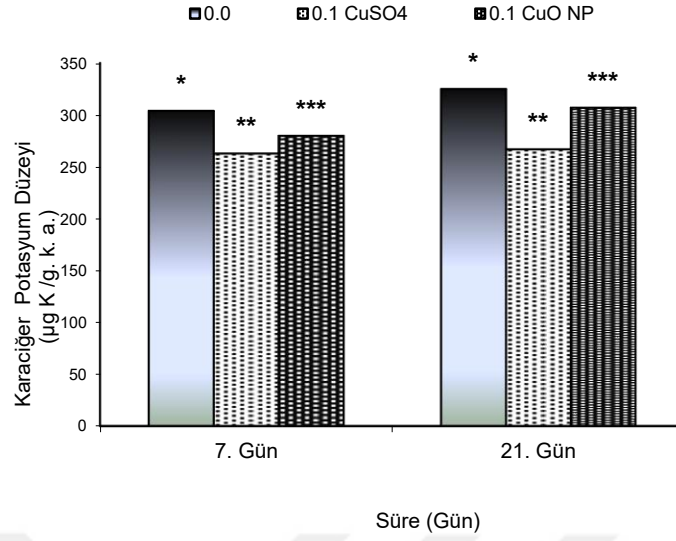
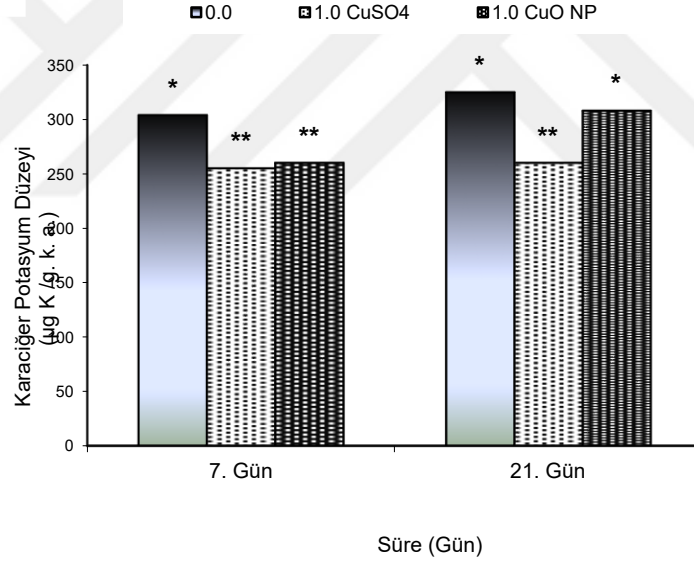
DOKULAR					
DERİŞİM (mg/L)	Karaciğer $\bar{X} \pm \text{sx}$ *	Bağırsak $\bar{X} \pm \text{sx}$ *	Solungaç $\bar{X} \pm \text{sx}$ *	Kas $\bar{X} \pm \text{sx}$ *	
Kontrol	325.57±9.84 a	422.70±9.65 a	294.93±5.06 a	242.77±10.05 a	
0.1 Cu SO ₄	267.90±7.66 b	383.97±54.11a	220.10±8.23 b	228.00±4.19 b	
1.0 Cu SO ₄	260.20±6.50 b	314.97±8.00 b	253.23±16.44 c	197.30±4.65 c	
Kontrol	325.57±9.84 a	422.70±9.65 a	294.93±5.06 a	242.77±10.05 a	
0.1 CuO NP	307.80±5.25 b	367.10±16.31b	214.23±10.72 b	224.09±6.94 a	
1.0 CuO NP	308.50±4.08 b	364.87±17.24b	263.53±3.30 c	171.93±13.77 b	

*SNK; a, b ve c harfler derişimler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır.

Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P < 0.05).

$\bar{X} \pm \text{sx}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

CuO NP ve CuSO₄'ün karaciğer dokusundaki potasyum iyon düzeyleri üzerine etkileri kıyaslandığında, 0.1 mg/L'lik derişimde 7 ve 21 günlük etki süresinde CuSO₄'ün etkisinde kalan balıkların karaciğerindeki potasyum iyon düzeyleri CuO NP'ün etkisinde kalan balıklardaki potasyum iyon düzeylerine oranla daha düşüktür (Şekil 4.9; P<0.05). 1.0 mg/L'lik derişimde 7 günlük sürede CuO NP ve CuSO₄'ün etkisinde kalan balıkların karaciğerindeki potasyum iyon düzeyleri arasında herhangi bir farklılık gözlenmezken (Şekil 4.9.; P>0.05), 21 günlük etki süresinde ise CuSO₄'ün etkisinde kalan balıkların karaciğerindeki potasyum iyon düzeyleri CuO NP'ün etkisinde kalan balıklardaki potasyum iyon düzeylerine oranla daha düşük olduğu saptanmıştır (Şekil 4.9; P<0.05).

A**B**

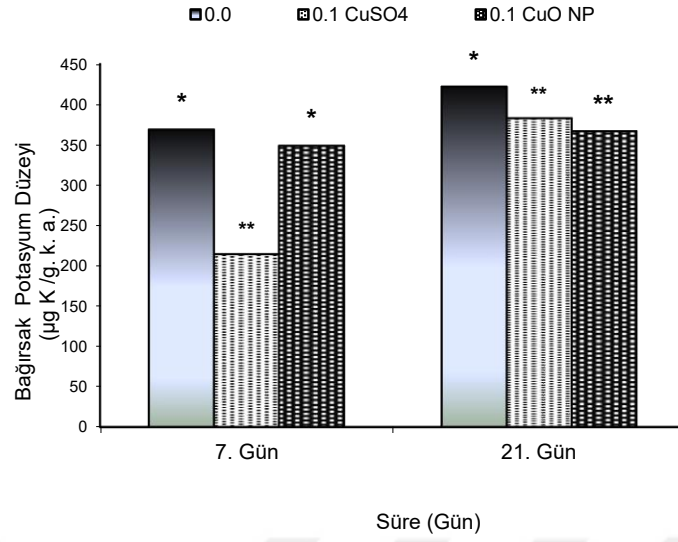
Şekil 4.9. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda süreye bağlı potasyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P < 0.05).

CuO NP ve CuSO₄'ın bağırsak dokusundaki potasyum iyon düzeyleri üzerine etkileri kıyaslandığında her iki ortam derişiminde de 7 günlük etki süresinde CuSO₄'ün etkisinde kalan balıkların bağırsak dokusundaki potasyum iyon düzeyleri CuO NP'ün etkisinde kalan balıklardaki potasyum iyon düzeylerine oranla daha düşük iken (Şekil 4.10.; P<0.05), 21 günlük etki süresinde ise CuO NP ve CuSO₄'ün etkisinde kalan balıkların bağırsak dokusundaki potasyum iyon düzeyleri arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4.10.; P>0.05).

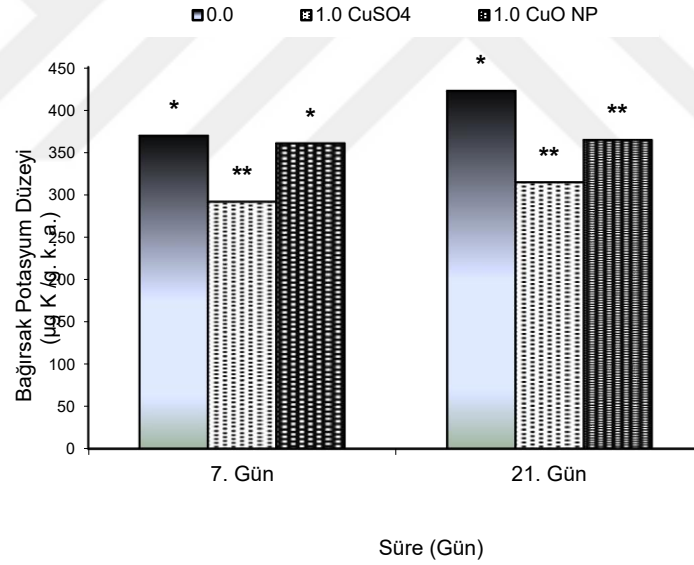
CuO NP ve CuSO₄'ın solungaç dokusundaki potasyum iyon düzeyleri üzerine etkileri kıyaslandığında 0.1 mg/L ve 1.0 mg/L'lik ortam derişimlerinde 7 günlük etki süresinde CuSO₄'ün etkisinde kalan balıkların solungaç dokusundaki potasyum iyon düzeyleri CuO NP'ün etkisinde kalan balıklardaki potasyum iyon düzeylerine oranla daha az olduğu (Şekil 4.11.; P<0.05), 21 günlük etki süresinde ise CuO NP ve CuSO₄'ün etkisinde kalan balıkların solungaç dokusundaki potasyum iyon düzeyleri arasında herhangi bir farklılık gözlenmediği saptanmıştır (Şekil 4.11.; P>0.05).

CuO NP ve CuSO₄'ın kas dokusundaki potasyum iyon düzeyleri üzerine etkileri kıyaslandığında 0.1 mg/L'lik derişimde ise 7 günlük etki süresinde CuSO₄'ün etkisinde kalan balıkların solungaç dokusundaki potasyum iyon düzeyleri CuO NP'ün etkisinde kalan balıklardaki potasyum iyon düzeylerine oranla daha düşük iken (Şekil 4.12; P<0.05). 21 günlük etki süresinde ise CuO NP ve CuSO₄'ün etkileri arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4.12.; P>0.05). 1.0 mg/L'lik derişimde 7 günlük etki süresinde CuO NP ve CuSO₄'ün etkisinde kalan balıkların kas dokusunda potasyum iyon düzeyleri arasında herhangi bir farklılık gözlenmezken (Şekil 4.12; P>0.05), 21 günlük etki süresinde CuO NP'ün etkisinde kalan balıkların kas dokusundaki potasyum iyon düzeyleri CuSO₄'ün etkisinde kalan balıklardaki potasyum iyon düzeylerine oranla daha düşük olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.12.; P<0.05).

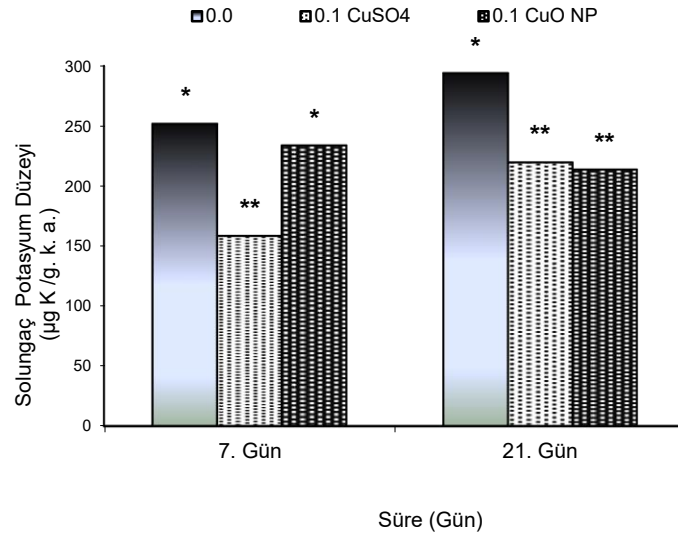
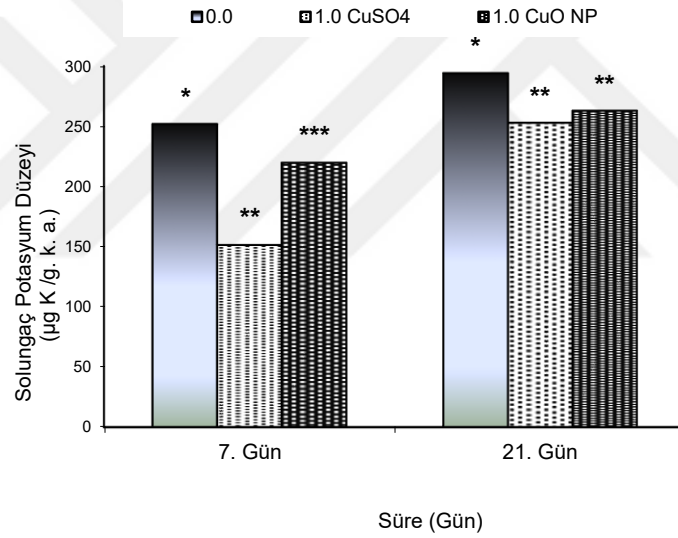
A



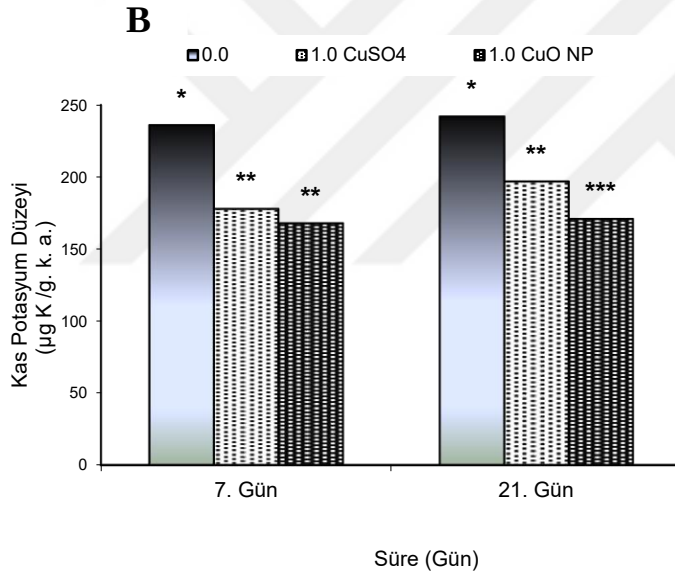
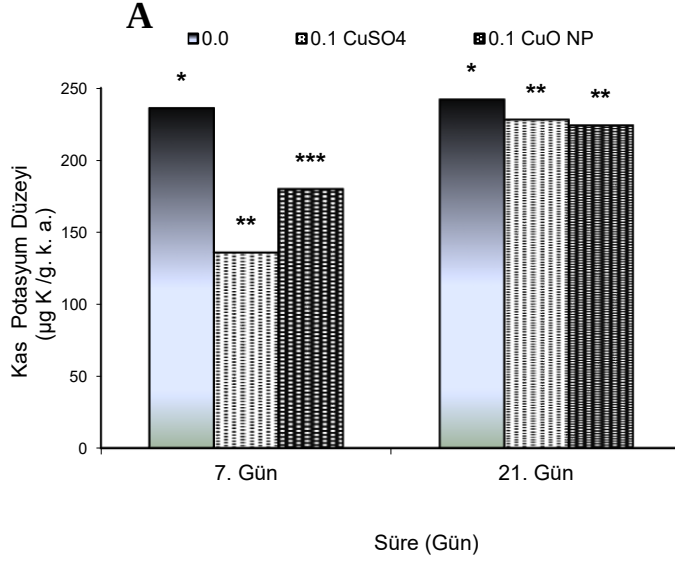
B



Şekil 4.10. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda süreye bağı potasyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ($P < 0.05$).

A**B**

Şekil 4.11. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un soungaç dokusunda süreye bağı potasyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ($P < 0.05$).



Şekil 4.12. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un kas dokusunda süreye bağlı potasyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P < 0.05).

4.2.3. Kalsiyum İyon Düzeyleri

O. niloticus'da belirli bir sürede karaciğer, bağırsak, solungaç ve kas dokusu kalsiyum iyon düzeyine Cu ONP ve CuSO₄'ün ortam derişimlerinin etkilerini belirlemek amacı ile veriler SNK testi (Student Newman Keul's Test) ile analiz edilmiş ve sonuçlar çizelge 4.7-8'de verilmiştir. Bu çizelgelerde a, b ve c harfleri derişimlerin etkisini göstermek amacıyla kullanılmıştır. Çizelgelerde farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistik ayrım vardır.

O. niloticus 'da 7 günlük süre sonunda CuSO₄ etkisinde *O. niloticus* 'da karaciğerde kalsiyum düzeyi kontrole oranla 0.1 mg/ L ortam derişiminde artma, 1.0 mg/L ortam derişiminde ise

azalma gösterirken (Çizelge 4.7.; $P<0.05$), barsak, ve kas dokularında ise kalsiyum düzeyi kontrole oranla artış, solungaç dokusunda ise azalma göstermiş ve bu artış ile azalma dokularda derişimler arasında istatistik ayrım göstermiştir (Çizelge 4.7.; $P<0.05$). *O. niloticus* 'da 7 günlük süre sonunda CuO NP etkisinde karaciğerde 0.1 mg/L ortam derişiminde ve solungaç dokusunda ise her iki ortam derişiminde kalsiyum düzeyleri kontrole göre azalırken (Çizelge 4.7.; $P<0.05$), bağırsak ve kas dokularında 1.0 mg/L ortam derişiminde kalsiyum düzeyleri kontrole göre artış göstermiştir (Çizelge 4.7.; $P<0.05$).

21 gün süreyle CuSO₄ etkisine bırakılan *O. niloticus* 'da karaciğerde 1.0 mg/L ortam derişiminde ve solungaç dokusunda her iki ortam derişiminde kalsiyum düzeyi kontrole oranla azalırken (Çizelge 4.8.; $P<0.05$), bağırsak ve kas dokularında kalsiyum düzeyinin kontrole oranla arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.8.; $P<0.05$). *O. niloticus* 'da 21 günlük süre sonunda CuO NP etkisinde karaciğerde yüksek ortam derişiminde ve solungaç dokusunda her iki ortam derişiminde kalsiyum düzeyi kontrole oranla azalırken (Çizelge 4.8.; $P<0.05$), bağırsak dokusunda denenen her iki ortam derişiminde ve kas dokusunda ise yüksek ortam derişiminde kalsiyum düzeyinin kontrole oranla arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.8.; $P<0.05$).

Çizelge 4.7. CuO NP ve CuSO₄'ün farklı derişimlerinin etkisine 7 gün süre ile bırakılan *O. niloticus*'un dokularında bakırın Kalsiyum düzeyi üzerine etkisi ($\mu\text{g Ca}^{++}/\text{g k.a.}$).

DERİŞİM (mg/L)	DOKULAR							
	Karaciğer		Bağırsak		Solungaç		Kas	
	$\bar{X} \pm \text{sx}$	*	$\bar{X} \pm \text{sx}$	*	$\bar{X} \pm \text{sx}$	*	$\bar{X} \pm \text{sx}$	*
Kontrol	456.80 $\pm$ 4.74	a	218.30 $\pm$ 5.12	a	473.63 $\pm$ 4.07	a	119.63 $\pm$ 0.30	a
0.1 Cu SO ₄	464.77 $\pm$ 25.38	b	339.60 $\pm$ 6.45	b	449.27 $\pm$ 2.00	b	136.83 $\pm$ 6.54	b
1.0 Cu SO ₄	414.53 $\pm$ 5.41	b	423.10 $\pm$ 16.24	c	435.80 $\pm$ 8.46	c	238.80 $\pm$ 10.06	c
Kontrol	456.80 $\pm$ 4.74	a	218.30 $\pm$ 5.12	a	473.63 $\pm$ 4.07	a	119.63 $\pm$ 0.30	a
0.1 CuO NP	444.50 $\pm$ 12.87	a	236.23 $\pm$ 5.98	a	391.73 $\pm$ 2.31	b	121.47 $\pm$ 3.30	a
1.0 CuO NP	302.87 $\pm$ 1.90	b	359.23 $\pm$ 14.46	b	377.70 $\pm$ 10.95	c	131.80 $\pm$ 6.00	b

*SNK; a, b ve c harfler derişimler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır.

Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P < 0.05$).

$\bar{X} \pm \text{sx}$: Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata

Çizelge 4.8. CuO NP ve CuSO₄'ün farklı derişimlerinin etkisine 21 gün süre ile bırakılan *O. niloticus*'un dokularında bakırın Kalsiyum düzeyi üzerine etkisi (µg Ca⁺⁺/g k.a.).

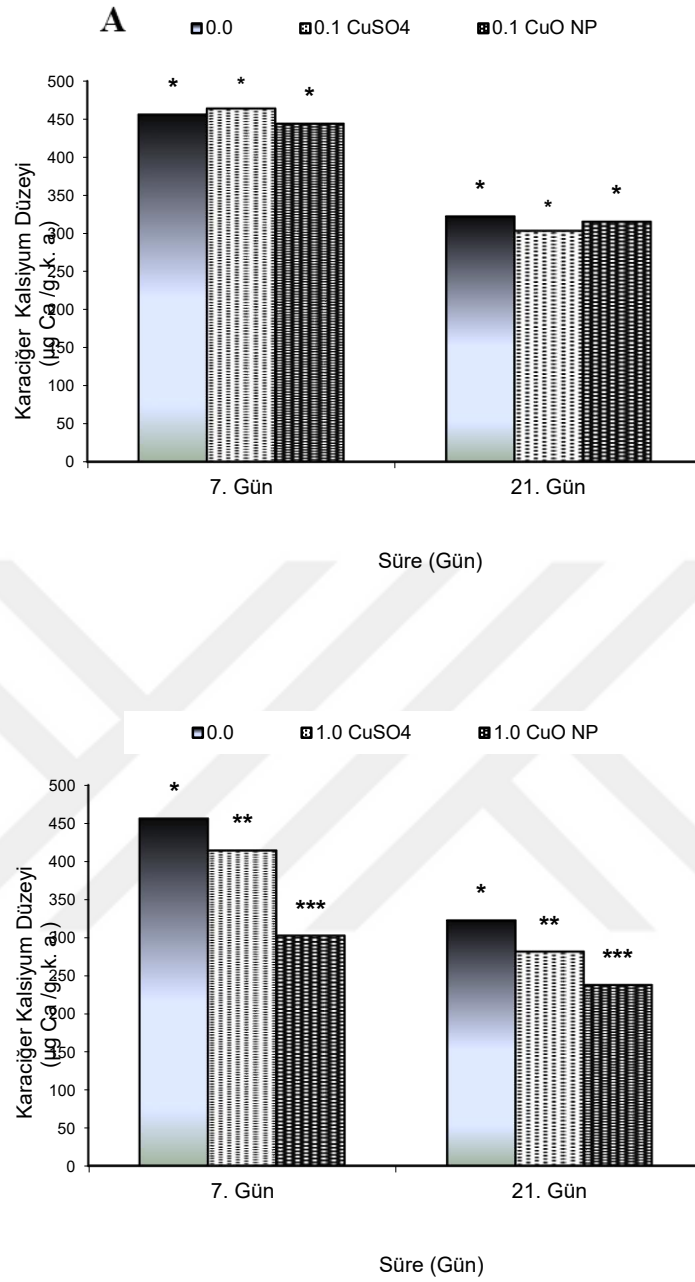
DOKULAR					
DERİŞİM (mg/L)	Karaciğer $\bar{X} \pm \text{sx}$ *	Bağırsak $\bar{X} \pm \text{sx}$ *	Solungaç $\bar{X} \pm \text{sx}$ *	Kas $\bar{X} \pm \text{sx}$ *	
Kontrol	322.70±1.60 a	216.40±7.92 a	476.60±9.00 a	115.63±6.93 a	
0.1 Cu SO ₄	303.87±3.16 a	268.93±7.39 b	441.23±6.99 b	155.20±7.20 b	
1.0 Cu SO ₄	281.13±17.39 b	389.10±3.17 c	429.97±5.06 b	319.97±8.55 c	
Kontrol	322.70±1.60 a	216.40±7.92 a	476.60±9.00 a	115.63±6.93 a	
0.1 CuO NP	315.77±3.61 a	250.90±7.45 b	441.90±3.10 b	136.00±4.56 a	
1.0 CuO NP	237.53±20.30 b	304.00±4.27 c	427.53±6.21 c	160.10±17.09 b	

*SNK; a, b ve c harfler derişimler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır.

Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P < 0.05).

$\bar{X} \pm \text{sx}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

CuO NP ve CuSO₄'ın karaciğer dokusundaki kalsiyum iyon düzeyleri üzerine etkileri kıyaslandığında, 0.1 mg/L'lik derişimde 7 ve 21 günlük etki süresinde CuO NP ve CuSO₄'ün etkisinde kalan balıkların karaciğerindeki kalsiyum iyon düzeyleri arasında herhangi bir farklılık gözlenmezken (Şekil 4.13.; P>0.05), 1.0 mg/L'lik derişimde çalışılan her iki sürede de CuO NP'ün etkisinde kalan balıkların karaciğerindeki kalsiyum iyon düzeyleri CuSO₄'ün etkisinde kalan balıklardaki kalsiyum iyon düzeylerine oranla daha düşük olduğu saptanmıştır (Şekil 4.13; P<0.05).



Şekil 4.13. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda süreye bağlı kalsiyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ($P < 0.05$).

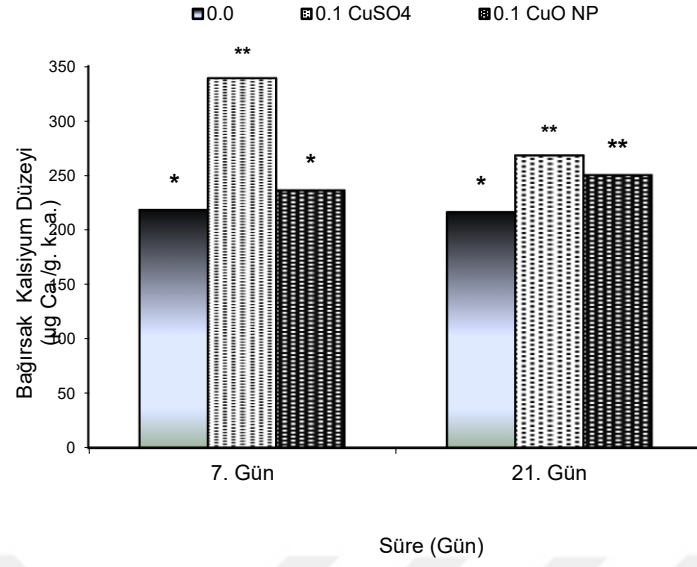
CuO NP ve CuSO₄'ın bağırsak dokusundaki kalsiyum iyon düzeyleri üzerine etkileri kıyaslandığında 0.1 mg/L'lik ortam derişiminde de 7 günlük etki süresinde CuO NP'ün etkisinde kalan balıkların bağırsak dokusundaki kalsiyum iyon düzeyleri CuSO₄'ün etkisinde kalan balıklardaki kalsiyum iyon düzeylerine oranla daha düşük iken (Şekil 4.14.; $P < 0.05$), 21 günlük etki süresinde ise CuO NP ve CuSO₄'ün etkileri arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4.14.; $P > 0.05$). 1.0 mg/L'lik derişimde 7 ve 21 günlük etki sürelerinde CuO NP'ün etkisinde kalan

balıkların bağırsak dokusunda kalsiyum iyon düzeyleri CuSO_4 'ün etkisinde kalan balıklardaki kalsiyum iyon düzeylerine oranla daha düşük olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.14.; $P<0.05$).

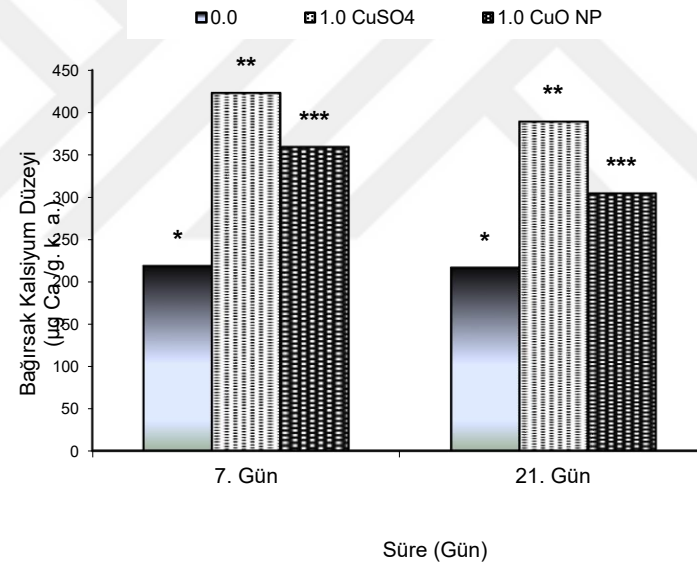
CuO NP ve CuSO_4 'ın solungaç dokusundaki kalsiyum iyon düzeyleri üzerine etkileri kıyaslandığında 0.1 mg/L ve 1.0 mg/L'lik ortam derişimlerinde 7 günlük etki süresinde CuO NP'ün etkisinde kalan balıkların solungaç dokusundaki kalsiyum iyon düzeyleri CuSO_4 'ün etkisinde kalan balıklardaki kalsiyum iyon düzeylerine oranla daha düşük olduğu (Şekil 4.15.; $P<0.05$), 21 günlük etki süresinde ise CuO NP ve CuSO_4 'ün etkisinde kalan balıkların solungaç dokusundaki kalsiyum iyon düzeyleri arasında herhangi bir farklılık gözlenmediği saptanmıştır (Şekil 4.15.; $P>0.05$).

CuO NP ve CuSO_4 'ın kas dokusundaki kalsiyum iyon düzeyleri üzerine etkileri kıyaslandığında hem 0.1 mg/L ve hemde 1.0 mg/'lik derişimlerde çalışılan her iki etki süresinde de CuO NP'ün etkisinde kalan balıkların kas dokusundaki kalsiyum iyon düzeyleri CuSO_4 'ün etkisinde kalan balıklardaki kalsiyum iyon düzeylerine oranla daha düşük olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.16.; $P<0.05$).

A

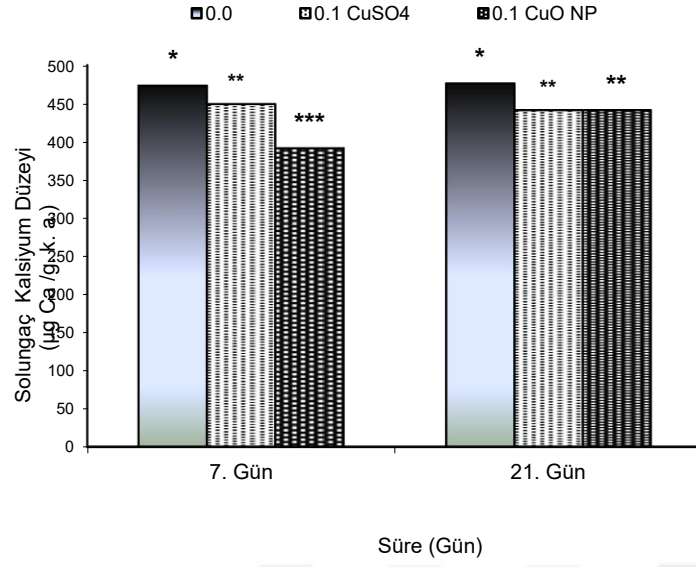


B

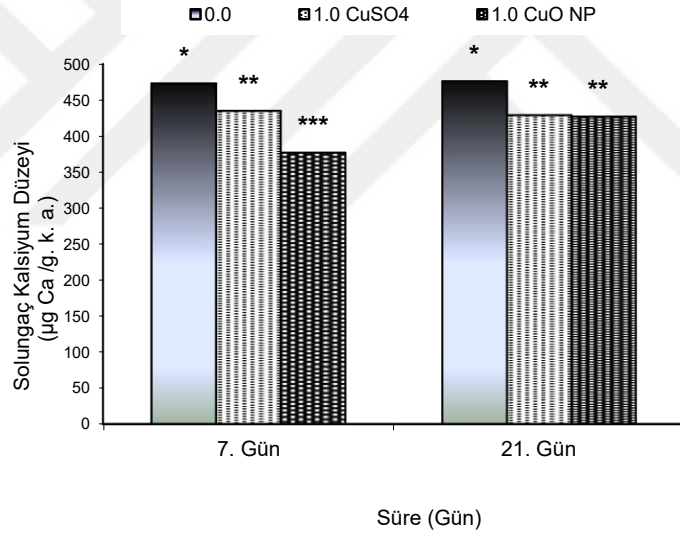


Şekil 4.14. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda süreye bağı kalsiyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P < 0.05).

A

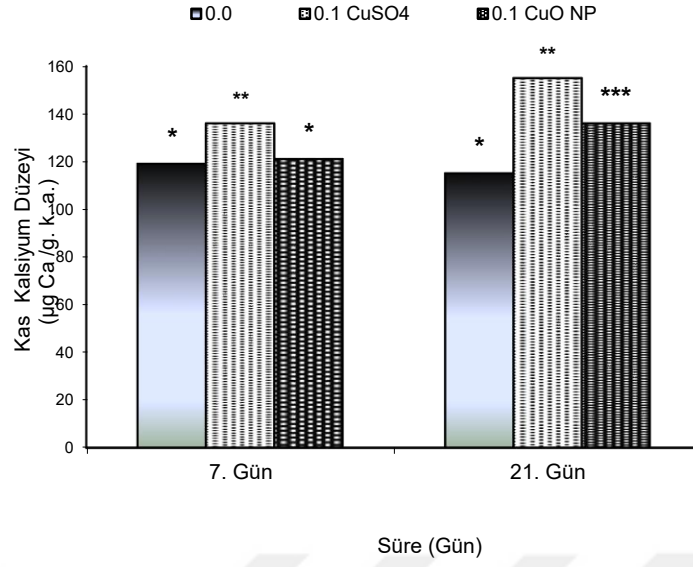


B

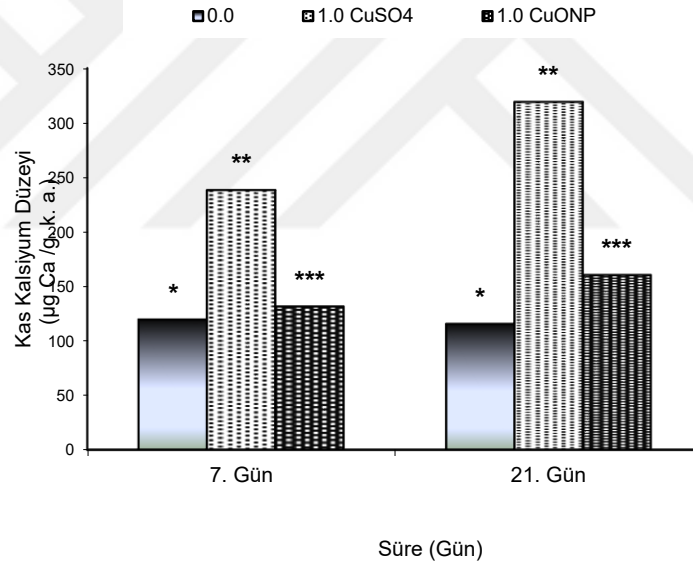


Şekil 4.15. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un solungaç dokusunda süreye bağı kalsiyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ($P < 0.05$).

A



B



Şekil 4.16. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un kas dokusunda süreye bağı kalsiyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P < 0.05).

4.2.4. Magnezyum İyon Düzeyleri

O. niloticus'da belirli bir sürede karaciğer, bağırsak, solungaç ve kas dokusu magnezyum iyon düzeyine Cu ONP ve CuSO₄'ün ortam derişimlerinin etkilerini belirlemek amacı ile veriler SNK testi (Student Newman Keul's Test) ile analiz edilmiş ve sonuçlar çizelge 4.9-10'da verilmiştir. Bu çizelgelerde a, b ve c harfleri derişimlerin etkisini göstermek amacıyla kullanılmıştır. Çizelgelerde farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistik ayırım vardır.

O. niloticus 'da 7 günlük süre sonunda CuSO₄ etkisinde *O. niloticus* 'da karaciğerde magnezyum düzeyi kontrole oranla her iki ortam derişiminde de herhangi bir değişim göstermezken (Çizelge 4.9.; P>0.05), bağırsak dokusunda her iki ortam derişiminde de kontrole oranla azalma göstermiştir (Çizelge 4.9.; P<0.05). Magnezyum iyon düzeyleri kontrole oranla solungaç dokusunda 0.1 mg/ L ortam derişiminde azalma, kas dokusunda ise 1.0 mg/L ortam derişiminde artış göstermiştir (Çizelge 4.9.; P<0.05), *O. niloticus* 'da 7 günlük süre sonunda CuO NP etkisinde karaciğer, bağırsak ve solungaç dokularında magnezyum düzeyleri kontrole göre azalırken (Çizelge 4.9.; P<0.05), kas dokusunda ise kontrole oranla herhangi bir değişim göstermemiştir (Çizelge 4.9.; P>0.05).

21 gün süreyle CuSO₄ etkisine bırakılan *O. niloticus* 'da denenen her iki derişimde de karaciğer, bağırsak ve solungaç dokularında magnezyum düzeyleri kontrole göre azalırken (Çizelge 4.10.; P<0.05), kas dokusunda ise kontrole oranla herhangi bir değişim göstermemiştir (Çizelge 4.10.; P>0.05). *O. niloticus* 'da 21 günlük süre sonunda CuO NP etkisinde karaciğer, bağırsak ve solungaç dokularında düşük ortam derişiminde magnezyum düzeyi kontrole oranla azalırken (Çizelge 4.10.; P<0.05), kas dokusunda ise her iki ortam derişiminde magnezyum düzeyinin kontrole oranla arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.10.; P<0.05).

Çizelge 4.9. CuO NP ve CuSO₄'ün farklı derişimlerinin etkisine 7 gün süre ile bırakılan *O. niloticus*'un dokularında bakırın Magnezyum düzeyi üzerine etkisi (µg Mg⁺⁺/g k.a.).

DERİŞİM (mg/L)	DOKULAR							
	Karaciğer		Bağırsak		Solungaç		Kas	
	$\bar{X} \pm \bar{Sx}$	*	$\bar{X} \pm \bar{Sx}$	*	$\bar{X} \pm \bar{Sx}$	*	$\bar{X} \pm \bar{Sx}$	*
Kontrol	119.47±7.30	a	156.53±3.00	a	166.17±13.40	a	125.37±3.32	a
0.1 Cu SO ₄	107.97±2.51	a	118.56±3.13	b	119.62±8.73	b	124.77±4.66	a
1.0 Cu SO ₄	106.30±9.77	a	139.70±4.95	c	157.87±12.64	a	134.47±1.23	b
Kontrol	106.30±9.77	a	156.53±3.00	a	166.17±13.40	a	125.37±3.32	a
0.1 CuO NP	74.99±3.70	b	125.30±1.92	b	132.43±3.18	b	129.62±6.12	a
1.0 CuO NP	95.14±3.45	c	114.07±3.71	c	145.83±4.30	b	134.63±3.07	a

*SNK; a, b ve c harfler derişimler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır.

Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P < 0.05).

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

Çizelge 4.10. CuO NP ve CuSO₄'ün farklı derişimlerinin etkisine 21 gün süre ile bırakılan *O. niloticus*'un dokularında bakırın Magnezyum düzeyi üzerine etkisi (µg Mg⁺⁺/g k.a.).

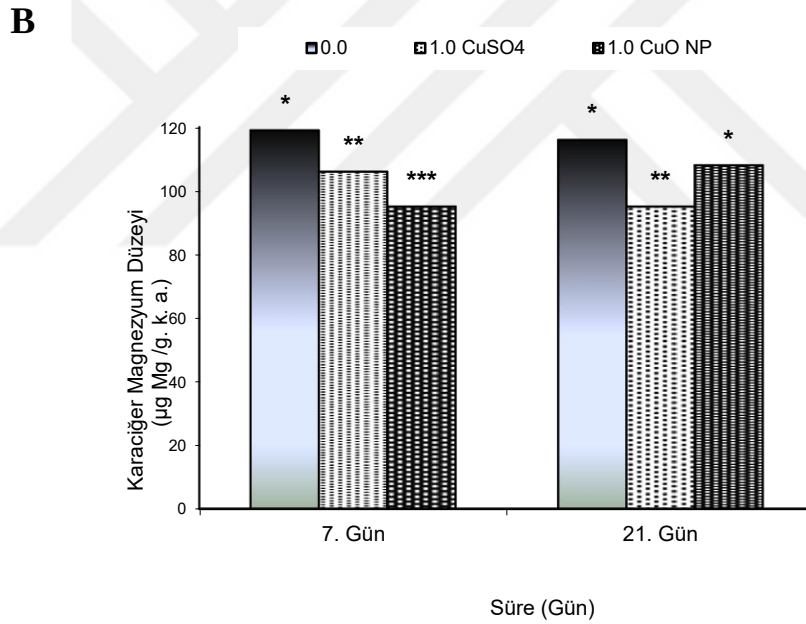
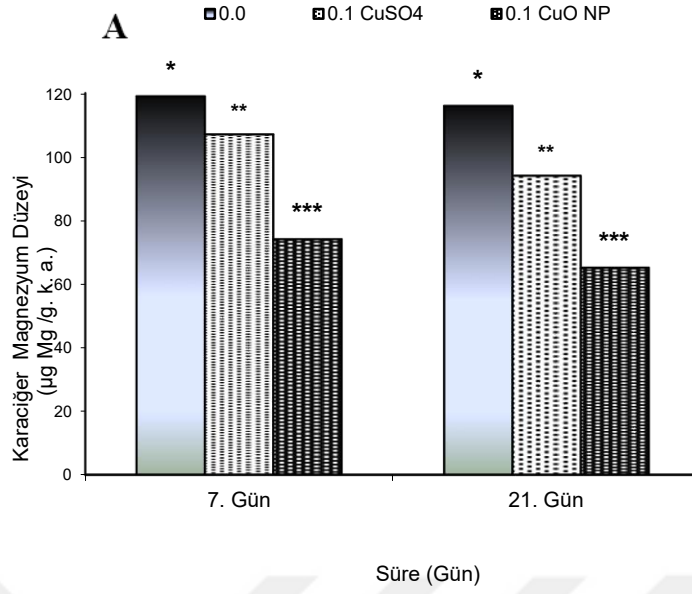
DOKULAR						
DERİŞİM (mg/L)	Karaciğer $\bar{X} \pm \text{sx}$ *	Bağırsak $\bar{X} \pm \text{sx}$ *	Solungaç $\bar{X} \pm \text{sx}$ *	Kas $\bar{X} \pm \text{sx}$ *		
Kontrol	116.83±10.16 a	170.90±12.85a	182.10±11.64 a	125.90±4.25 a		
0.1 Cu SO ₄	94.40±3.62 b	152.17±1.40 b	163.07±2.12 b	125.73±4.01 a		
1.0 Cu SO ₄	95.89±4.58 b	128.13±3.61 c	155.30±6.43 b	140.53±8.54 a		
Kontrol	116.83±10.16 a	170.90±12.85a	182.10±11.64 a	125.90±4.25 a		
0.1 CuO NP	65.43±3.51 b	108.73±23.76b	138.93±8.45 b	140.43±2.08 b		
1.0 CuO NP	108.36±8.54 a	150.00±1.67 a	171.73±6.74 a	135.80±3.01 b		

*SNK; a, b ve c harfler derişimler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır.

Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P < 0.05).

$\bar{X} \pm \text{sx}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

CuO NP ve CuSO₄'ın karaciğer dokusundaki magnezyum iyon düzeyleri üzerine etkileri kıyaslandığında, 0.1 mg/L'lik derişimde 7 ve 21 günlük etki süresinde CuO NP'ün etkisinde kalan balıkların karaciğerindeki magnezyum iyon düzeyleri CuSO₄'ün etkisinde kalan balıklardaki magnezyum iyon düzeylerine oranla daha düşük olduğu saptanmıştır (Şekil 4.17.; P<0.05), 1.0 mg/L'lik derişimde 7 günlük sürede CuO NP'ün etkisinde kalan balıkların karaciğerindeki magnezyum iyon düzeyleri CuSO₄'ün etkisinde kalan balıklardaki magnezyum iyon düzeylerine oranla daha düşük iken, 21 günlük sürede ise yüksek olduğu saptanmıştır (Şekil 4.17; P<0.05).



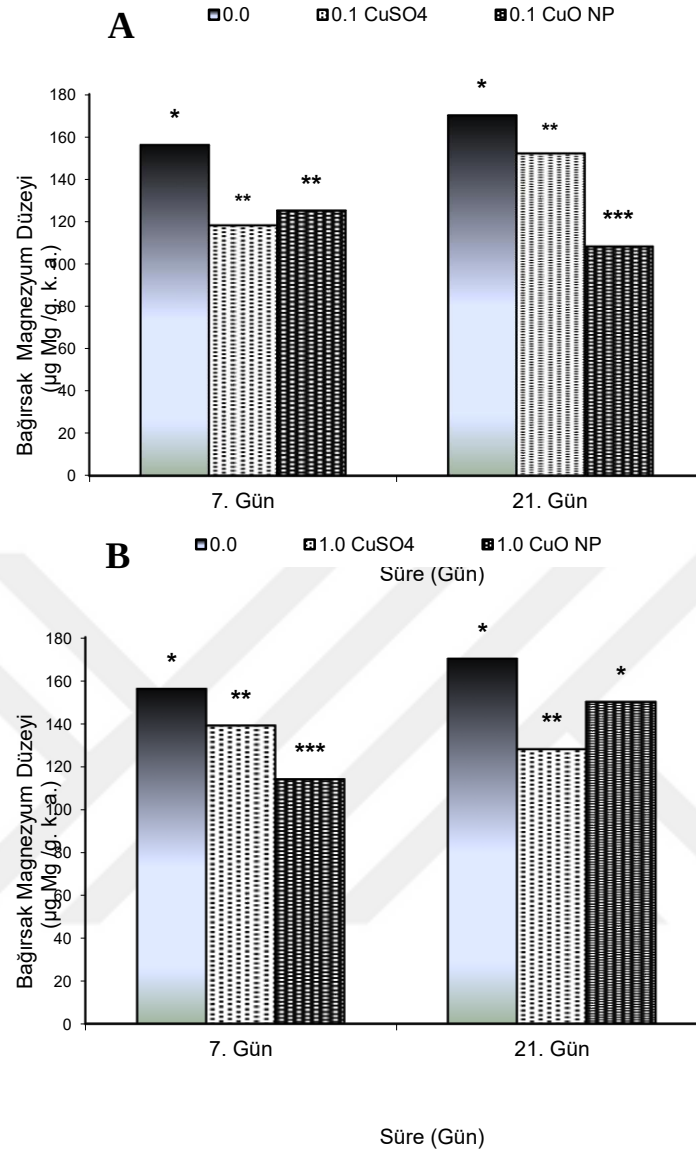
Şekil 4.17. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda süreye bağlı magnezyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P < 0.05).

CuO NP ve CuSO₄'ın bağırsak dokusundaki magnezyum iyon düzeyleri üzerine etkileri kıyaslandığında 0.1 mg/L'lik ortam derişiminde de 7 günlük etki süresinde CuO NP ve CuSO₄'ün etkileri arasında herhangi bir farklılık gözlenmediği (Şekil 4.18.; P>0.05), 21 günlük etki süresinde ise CuO NP'ün etkisinde kalan balıkların bağırsak dokusundaki magnezyum iyon düzeyleri CuSO₄'ün etkisinde kalan balıklardaki magnezyum iyon düzeylerine oranla daha düşük olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.18.; P<0.05). 1.0 mg/L'lik derişimde 7 günlük sürede CuO NP'ün etkisinde

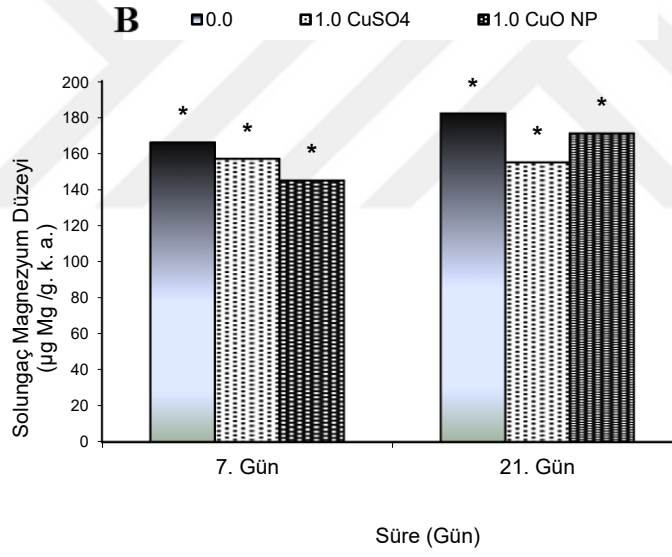
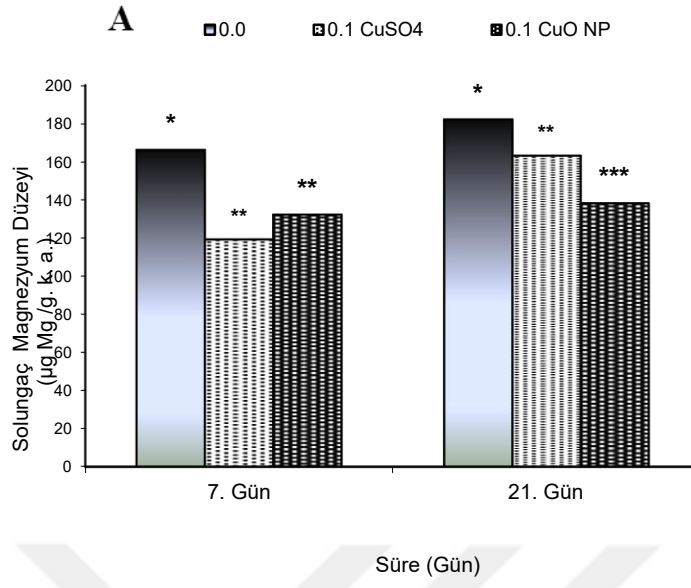
kalan balıkların bağırsağındaki magnezyum iyon düzeyleri CuSO_4 'ün etkisinde kalan balıklardaki magnezyum iyon düzeylerine oranla daha düşük iken, 21 günlük sürede ise yüksek olduğu saptanmıştır (Şekil 4.18; $P<0.05$).

CuO NP ve CuSO_4 'ın solungaç dokusundaki magnezyum iyon düzeyleri üzerine etkileri kıyaslandığında 0.1 mg/L'lik ortam derişiminde de 7 günlük etki süresinde CuO NP ve CuSO_4 'ün etkileri arasında istatistiksel bir farklılığın olmadığı (Şekil 4.19.; $P>0.05$), 21 günlük etki süresinde ise CuO NP'ün etkisinde kalan balıkların solungaç dokusundaki magnezyum iyon düzeyleri CuSO_4 'ün etkisinde kalan balıklardaki magnezyum iyon düzeylerine oranla daha düşük olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.19.; $P<0.05$). 1.0 mg/L'lik ortam derişiminde 7 ve 21 günlük etki süresinde CuO NP ve CuSO_4 'ün solungaç dokusu magnezyum iyon düzeylerine etkilerinde istatistiksel bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4.19.; $P>0.05$),

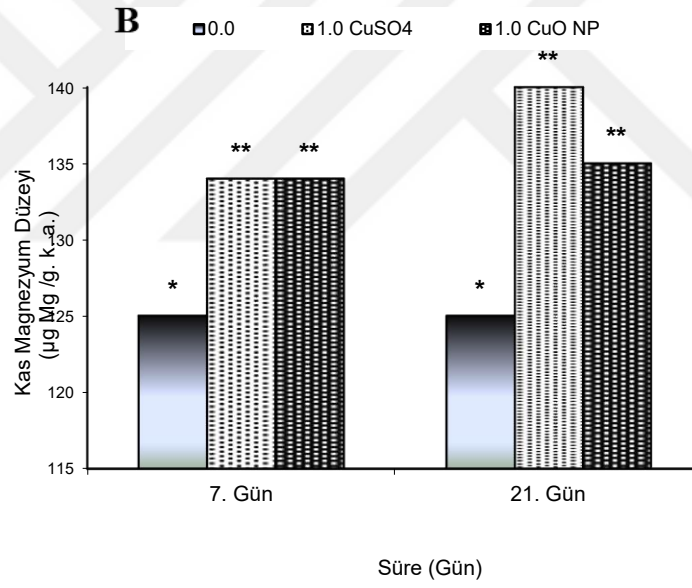
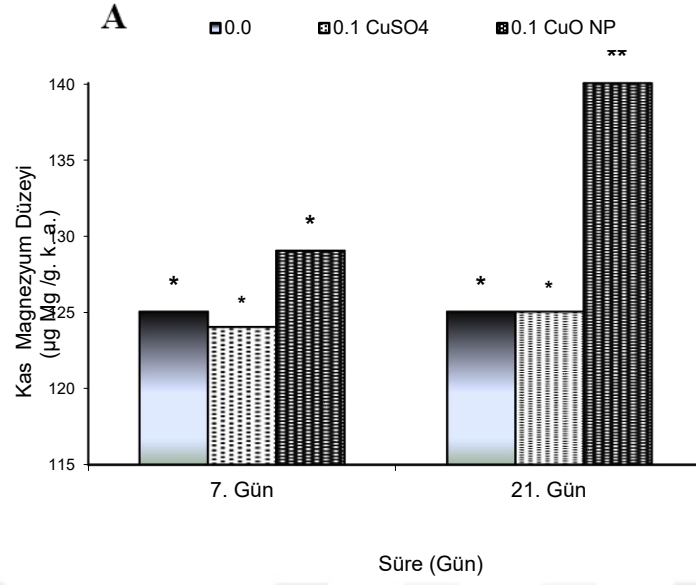
CuO NP ve CuSO_4 'ın kas dokusundaki magnezyum iyon düzeyleri üzerine etkileri kıyaslandığında 0.1 mg/L ortam derişiminde 7 günlük etki süresinde CuO NP ve CuSO_4 'ün etkileri arasında istatistiksel bir farklılığın olmadığı (Şekil 4.20.; $P>0.05$), 21 günlük etki süresinde ise CuO NP'ün etkisinde kalan balıkların kas dokusundaki kalsiyum iyon düzeyleri CuSO_4 'ün etkisinde kalan balıklardaki magnezyum iyon düzeylerine oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.20.; $P<0.05$). 1.0 mg/L'lik ortam derişiminde 7 ve 21 günlük etki süresinde CuO NP ve CuSO_4 'ün kas dokusu magnezyum iyon düzeylerine etkilerinde herhangi bir farklılığın gözlenmediği saptanmıştır (Şekil 4.20.; $P>0.05$).



Şekil 4.18. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda süreye bağı magnezyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ($P < 0.05$).



Şekil 4.19. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un solungaç dokusunda süreye bağı magnezyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P < 0.05).



Şekil 4.20. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un kas dokusunda süreye bağlı magnezyum iyon düzeyinin karşılaştırılması (µg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P < 0.05).

4.3. ATP az Aktivitesi

O. niloticus'da belirli bir sürede karaciğer, bağırsak, solungaç ve kas dokusu Na^+/K^+ -ATP az aktivitesine Cu ONP ve CuSO_4 'ün ortam derişimlerinin etkilerini belirlemek amacı ile veriler SNK testi (Student Newman Keul's Test) ile analiz edilmiş ve sonuçlar çizelge 4.11-14'de verilmiştir. Bu çizelgelerde a, b ve c harfleri derişimlerin etkisini göstermek amacıyla kullanılmıştır. Çizelgelerde farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayırım vardır.

Karaciğer dokusunda CuO NP ve CuSO_4 'ün etkisindeki Na^+/K^+ -ATP az aktivitesi 7 ve 21 günlük etki süresinde tüm derişimlerde kontrole oranla azalış göstermiştir (Çizelge 4.11.; $P<0.05$). CuO NP'nin etkisinde 7 ve 21 günlük etki sürelerinde derişimler arasında herhangi bir ayırım gözlenmezken ($P>0.05$). CuSO_4 'ün etkisinde 7 günlük etki süresinde derişimdeki artışa bağlı olarak enzim aktivitesinde azalmanın daha yüksek olduğu gözlenmiştir ($P<0.05$).

Süreye bağlı metal etkisi incelendiğinde, hem CuO NP ve hemde CuSO_4 'ün etkisinde denenen tüm derişimlerde 21 günlük etki süresinde 7 günlük etki süresine oranla Na^+/K^+ -ATP az aktivitesindeki azalma daha fazla olmuştur ($P<0.05$).

Çizelge 4.11. CuO NP ve CuSO_4 'ün farklı derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda bakırın Na^+/K^+ -ATP az aktivitesi üzerine etkisi ($\mu\text{mol Pi/mg Prt/sa}$).

DERİŞİM (mg/L)	Süre (gün)			
	7		21	
Kontrol	9.08±0.35	ax	8.84±0.63	ay
0.1 mg/L CuONP	4.51±0.45	bx	3.98±0.16	by
1.0 mg/L CuONP	4.32±0.23	bx	3.60±0.29	by
Kontrol	9.08±0.35	ax	8.84±0.63	ay
0.1 mg/L CuSO_4	5.07±0.26	bx	3.58±0.30	by
1.0 mg/L CuSO_4	3.81±0.15	cx	2.66±0.20	by

*SNK; a, b ve c harfleri derişimleri; x ve y harfleri süreler arası ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ($P < 0.05$).

$\bar{X} \pm \text{sx}$: Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata

CuO NP ve CuSO₄'ün etkisine bırakılan balıkların bağırsak dokusunda Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesi 7 ve 21 günlük etki süresinde tüm derişimlerde kontrole göre azaldığı saptanmıştır (Çizelge 4.12.; P<0.05). Hem CuO NP ve hemde CuSO₄'ün etkisinde denenen sürelerde derişimler arasında herhangi bir ayırım gözlenmemiştir (P>0.05).

Süreye bağlı metal etkisi incelendiğinde, CuO NP etkisinde denenen tüm derişimlerde 21 günlük etki süresinde 7 günlük etki süresine oranla Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesindeki azalma daha fazla olmuştur (P<0.05). CuSO₄ etkisinde ise 0.1 mg/L'lik derişimde etkide kalma süresindeki artışa bağlı olarak enzim aktivitesinde herhangi bir değişim gözlenmezken (P>0.05), 1.0 mg/L'lik derişimde etkide kalma süresindeki artışa bağlı olarak enzim aktivitesi azalmıştır (P<0.05).

Çizelge 4.12. CuO NP ve CuSO₄'ün farklı derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda bakırın Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesi üzerine etkisi (μmol Pi/mg Prt/sa).

DERİŞİM (mg/L)	Süre (gün)			
	7		21	
Kontrol	7.57±0.36	ax	7.26±0.32	ax
0.1 mg/L CuONP	5.02±0.19	bx	4.97±0.11	by
1.0 mg/L CuONP	4.85±0.24	bx	4.50±0.23	by
Kontrol	7.57±0.36	ax	7.26±0.32	ax
0.1 mg/L CuSO ₄	3.83±0.17	bx	3.47±0.29	bx
1.0 mg/L CuSO ₄	3.06±0.17	bx	2.54±0.25	by

*SNK; a ve b harfleri derişimleri; x ve y harfleri süreler arası ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (P < 0.05).

$\bar{X} \pm \text{sx}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

Solungaç dokusunda CuO NP'nin etkisindeki Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesi 7 günlük etki süresinde 0.1 mg/L derişimde kontrole oranla herhangi bir değişim olmamış (P>0.05), 1.0 mg/L derişimde ise azalış göstermiştir (Çizelge 4.13.; P<0.05). 21 günlük etki süresinde ise tüm derişimlerde kontrole göre azaldığı saptanmıştır (Çizelge 4.12.; P<0.05). CuSO₄'ün etkisindeki Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesi 7 ve 21 günlük etki süresinde tüm derişimlerde kontrole göre azaldığı saptanmıştır (Çizelge 4.12.; P<0.05). CuO NP'nin etkisinde 7 ve 21 günlük etki sürelerinde derişimler arasında bir ayırım gözlenirken (P<0.05). CuSO₄'ün etkisinde 7 günlük etki süresinde derişimdeki artışa bağlı olarak enzim aktivitesinde azalmanın daha yüksek olduğu gözlenmiştir (P<0.05).

Süreye bağlı metal etkisi incelendiğinde, hem CuO NP ve hemde CuSO₄'ün etkisinde denenen tüm derişimlerde solungaç dokusu Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesi 21 günlük etki süresinde 7 günlük etki süresine oranla azalmanın daha fazla olduğu belirlenmiştir (P<0.05).

Çizelge 4.13. CuO NP ve CuSO₄'ün farklı derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un solungaç dokusunda bakırın Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesi üzerine etkisi (μmol Pi/mg Prt/sa).

DERİŞİM (mg/L)	Süre (gün)			
	7		21	
Kontrol	23.48±0.72	ax	23.48±0.72	ax
0.1 mg/L CuONP	21.97±0.31	ax	19.39±0.67	by
1.0 mg/L CuONP	15.02±0.53	bx	12.72±0.65	cy
Kontrol	23.48±0.72	ax	23.48±0.72	ax
0.1 mg/L CuSO ₄	20.25±0.33	bx	18.14±0.58	by
1.0 mg/L CuSO ₄	18.41±0.30	cx	16.60±0.76	by

*SNK; a, b ve c harfleri derişimleri; x ve y harfleri süreler arası 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

CuO NP ve CuSO₄'ün etkisine bırakılan balıkların kas dokusunda Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesi 7 ve 21 günlük etki süresinde tüm derişimlerde kontrole göre azaldığı saptanmıştır (Çizelge 4.12.; P<0.05). CuO NP'in etkisinde denenen sürelerde derişimler arasında ayrım istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır (P<0.05). CuSO₄'ün etkisinde 7 günlük etki süresinde derişimler arasında herhangi bir ayrım gözlenmezken (P>0.05), 21 günlük etki süresinde derişimler arasında ayrım istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır.

Süreye bağlı metal etkisi incelendiğinde, CuONP etkisinde 0.1 mg/L'lik derişimde etkide kalma süresindeki artışa bağlı olarak Na⁺/K⁺- ATP az enzim aktivitesi azalırken (P<0.05), 1.0 mg/L'lik derişimde etkide kalma süresindeki artışa bağlı olarak enzim aktivitesinde herhangi bir değişim gözlenmemiştir (P>0.05). CuSO₄'ün etkisinde denenen tüm derişimlerde 21 günlük etki süresinde 7 günlük etki süresine oranla Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesindeki azalma daha fazla olmuştur (P<0.05).

Çizelge 4.14. CuO NP ve CuSO₄'ün farklı derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un kas dokusunda bakırın Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesi üzerine etkisi (μmol Pi/mg Prt/sa).

DERİŞİM (mg/L)	Süre (gün)			
	7		21	
Kontrol	28.83±0.42	ax	27.76±0.34	ax
0.1 mg/L CuONP	25.43±0.37	bx	23.95±0.49	by
1.0 mg/L CuONP	21.60±0.68	cx	20.61±0.30	cx
Kontrol	28.83±0.42	ax	27.76±0.34	ax
0.1 mg/L CuSO ₄	20.51±0.27	bx	19.07±0.03	by
1.0 mg/L CuSO ₄	19.09±0.54	bx	17.05±0.51	cy

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

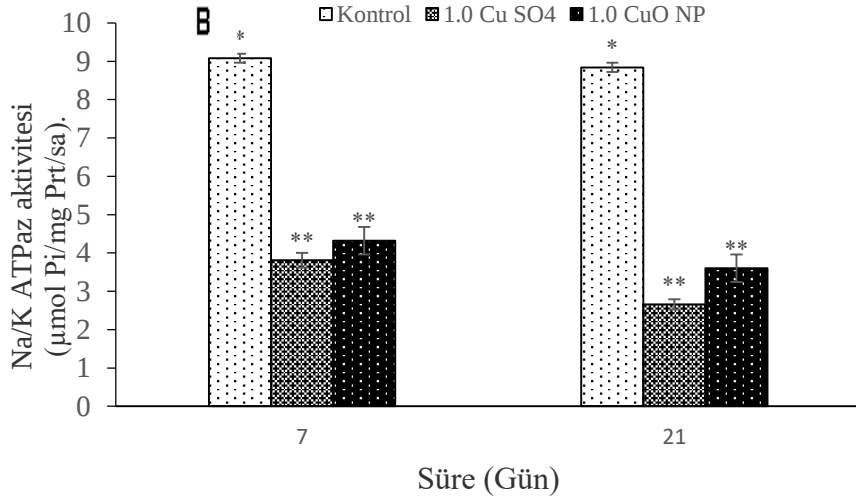
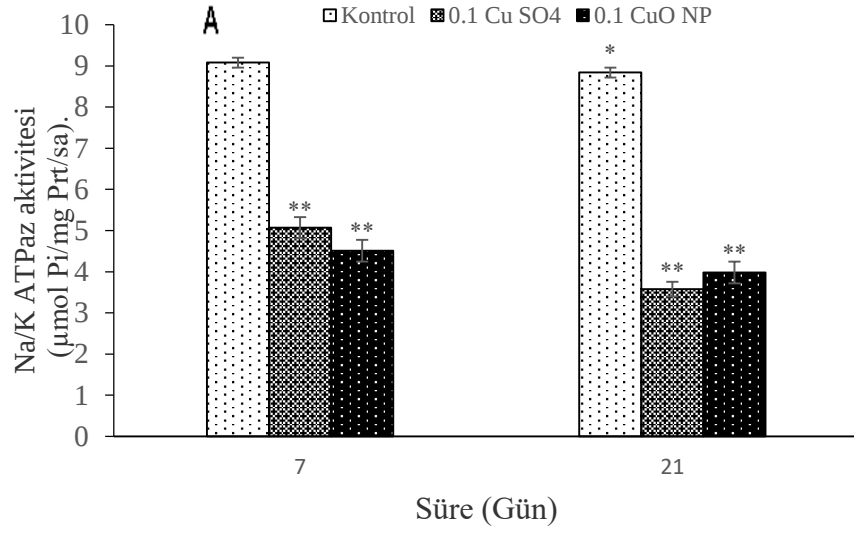
$\bar{X} \pm s\bar{x}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

Cu NP ve CuSO₄'ün karaciğer dokusundaki Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesi kıyaslandığında, 0.1 ve 1.0 mg/L'lik derişimde 7 ve 21 günlük etki sürelerinde CuO NP ve CuSO₄'ün etkisinde kalan balıkların karaciğerindeki Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesi arasında önemli bir değişim saptanamamıştır (Şekil 4.18.; P>0.05).

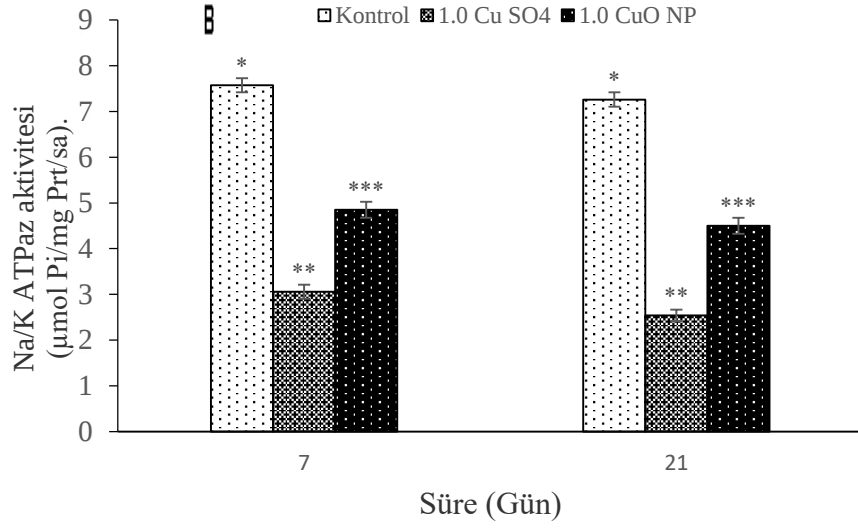
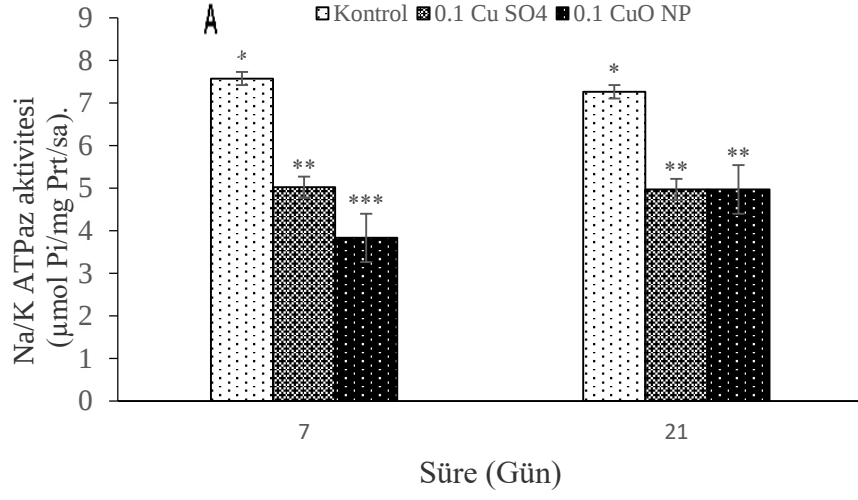
Cu NP ve CuSO₄'ün bağırsak dokusundaki Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesi kıyaslandığında, 0.1 mg/L'lik derişimde 7 günlük etki süresinde CuO NP'in etkisinde kalan balıkların bağırsaklarındaki Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesinin CuSO₄'ün etkisinde kalan balıklara oranla daha düşük olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.19.; P<0.05). 1.0 mg/L'lik derişimde 7 ve 21 günlük etki sürelerinde CuO NP'in etkisinde kalan balıkların bağırsaklarındaki Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesinin CuSO₄'ün etkisindeki enzim aktivitesine oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir (P<0.05).

Cu NP ve CuSO₄'ün solungaç dokusundaki Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesi kıyaslandığında, 0.1 mg/L'lik derişimde 7 ve 21 günlük etki sürelerinde CuO NP ve CuSO₄'ün etkisinde kalan balıkların solungaç dokusundaki Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesi arasında önemli bir değişim saptanamamıştır (Şekil 4.20.; P>0.05). 1.0 mg/L'lik derişimde 7 ve 21 günlük etki sürelerinde CuO NP'in etkisinde kalan balıkların solungaçlarındaki Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesinin CuSO₄'ün etkisindeki enzim aktivitesine oranla daha düşük olduğu belirlenmiştir (P<0.05).

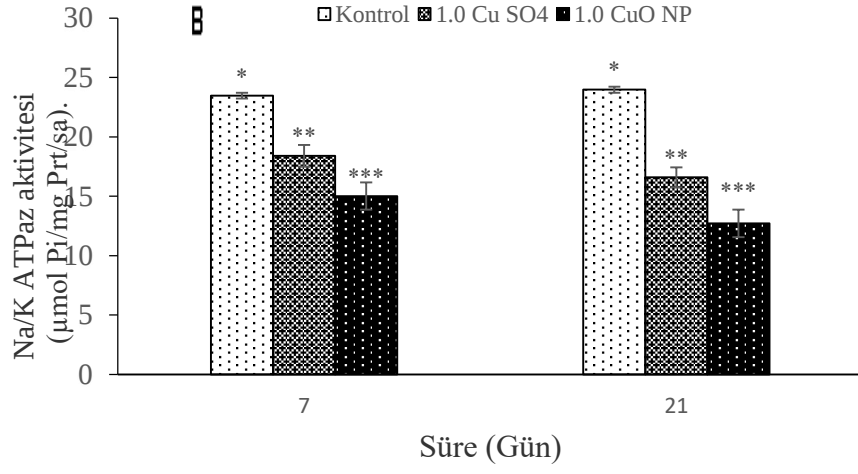
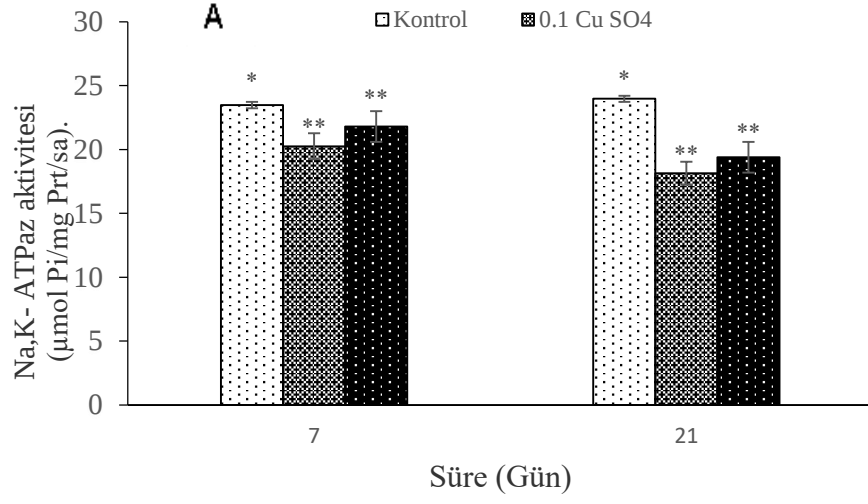
Cu NP ve CuSO₄'ün kas dokusundaki Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesi kıyaslandığında, 0.1 ve 1.0 mg/L'lik derişimde 7 ve 21 günlük etki sürelerinde CuO NP'in etkisinde kalan balıkların kas dokusundaki Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesinin CuSO₄'ün etkisinde kalan balıklardaki enzim aktivitesine oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.21.; P<0.05).



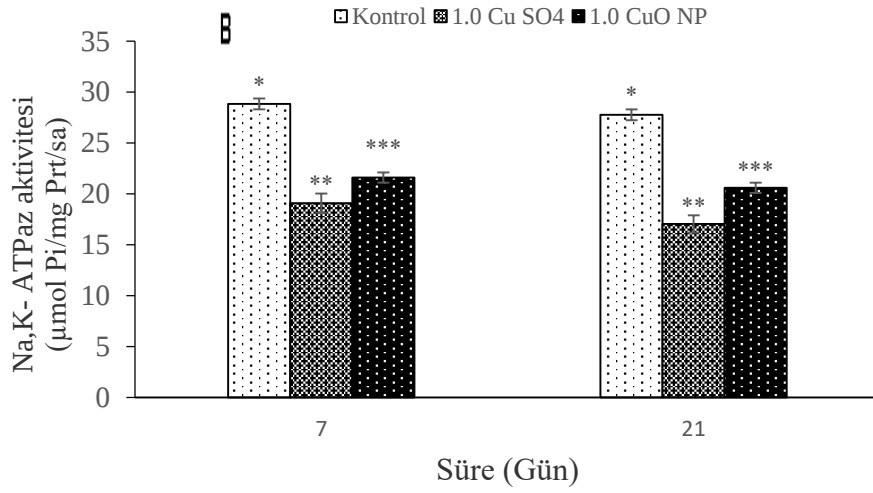
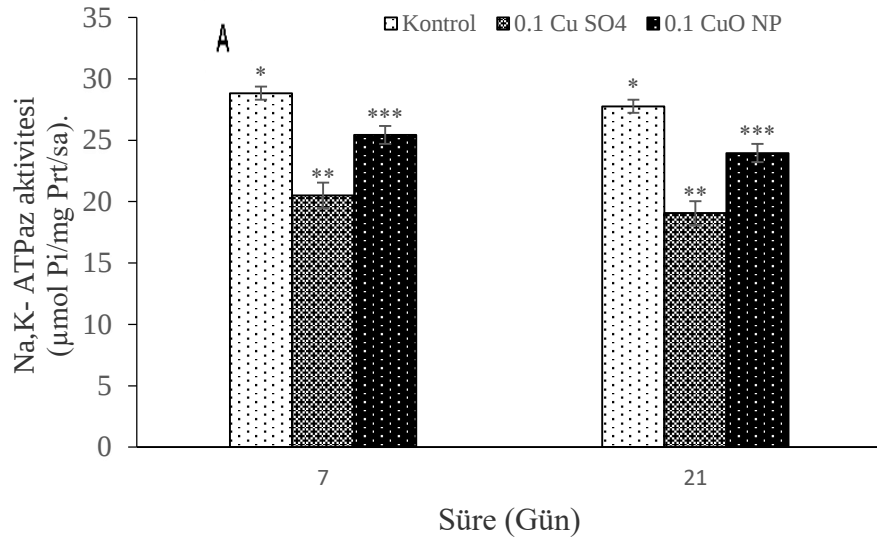
Şekil 4.21. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda süreye bağı Na,K -ATP az aktivitesinin karşılaştırılması ($\mu\text{g Cu/g k.a.}$). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ($\mu\text{mol Pi/mg Prt/sa}$).



Şekil 4.22. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un bağırsak dokusunda süreye bağı Na,K -ATP az aktivitesinin karşılaştırılması (μg Cu/g k.a.). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır (μmol Pi/mg Prt/sa).



Şekil 4.23. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un solungaç dokusunda süreye bağlı Na,K -ATP az aktivitesinin karşılaştırılması ($\mu\text{g Cu/g k.a.}$). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ($\mu\text{mol Pi/mg Prt/sa}$).



Şekil 4.24. CuO NP ve CuSO₄'ün 0.1 (A) ve 1.0 (B) mg/L derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un kas dokusunda süreye bağı Na,K -ATP az aktivitesinin karşılaştırılması ($\mu\text{g Cu/g k.a.}$). Farklı simgelerle gösterilen veriler arasında istatistik ayır vardır ($\mu\text{mol Pi/mg Prt/sa}$).

4.4. Tartışma

Ağır metaller, su kirleticinin önemli bir türüdür ve balıklar için potansiyel olarak toksik olmaları nedeniyle, balıkların hayatta kalma, büyüme ve üremeleri üzerinde etkili olabilen biyokimyasal ve fizyolojik değişikliklere neden olurlar. Su ortamında bulunan organizmalar metalleri biriktirebilirler buda organizmanın sadece üretkenliğini ve üreme yeteneğini değil, aynı zamanda bu organizmalarda yaşamsal aktiviteler için gerekli olan parametreleri de olumsuz yönde etkileyebilmektedir.

Toksisite çalışmalarındaki letal (ölümcül) etkiler, canlılık ve duyarlılık üzerindeki etkilere dayanarak organizmaların kirleticili maddelere verdiği akut stres tepkileridir. Letal etkilere gözlenen farklılıklar, balık türleri ve büyüklüğü, kullanılan suyun fiziko kimyasal özellikleri, doz ve maruz kalma süresine bağlı olarak değişebilir (Shobana ve ark., 2018). Organizmaların metaller ve nanometal oksitlere (nanoCuO) tepkileri türlere ve metaller göre değişmektedir (Erdem ve Kargın, 1992; Griffitt ve ark., 2007; Hao ve Chen, 2012; Bondarenko ve ark., 2013). Nanometaller ve çözünen metallerin toksisitesi, vücuda solunum veya sindirim yoluyla alınan bu metallerin membran ve protein yapısını bozması, enerji kaynaklarını azaltması ve fizyolojik hasarlar (büyüme, üreme ve hayatta kalma) yapması sonucu olmaktadır. Bu araştırmada CuO NP ve CuSO₄ 'ün yüksek ortam derişimlerinde, deneylerin sona erdirildiği 21. günün sonunda *Oreochromis niloticus*'da ölüm gözlenmemiştir, fakat yüksek ortam derişimlerindeki balıklar olağan olmayan davranış değişiklikleri göstermişlerdir. 60 gün süreyle bakırın farklı derişimlerine bırakılan *Tilapia nilotica*'da ve *Cyprinus carpio*'da düşük derişimlerde mortalite gözlenmezken, yüksek derişimlerde mortalitenin olduğu saptanmıştır (Erdem ve Kargın, 1992). Shaw ve ark. (2012) *Oncorhynchus mykiss*'de 100 µg/L CuSO₄ ve Cu-NP'lerin etkisinde mortalitenin olduğu ve CuSO₄'ün, eşdeğer konsantrasyondaki Cu-NP'lerden daha toksik olduğunu saptamışlardır. Yapılan çalışmalarda, TiO₂ ve CuO NP'lerin, *C. carpio* için akut toksisite göstermediği bildirilmiştir (Hao ve ark., 2009; Zhao ve ark., 2011) ve metal oksit NP'lerin sazan üzerine akut toksisitesi düşük olduğu belirlenmiştir (Hao ve Chen, 2012).

Bu araştırmada, CuSO₄ ve CuO NP'lerin düşük derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'da besinin yeterince alınamamasına, solungaçlarda mukus oluşumuna, solunum güçlüğüne, yüzme hareketlerinde koordinasyon bozukluğuna ve yüzgeçlerde dejenerasyona neden olduğu gözlenmiştir. Balıklarda ölüm olmaması, bakır derişimlerinin düşük olması, balıkların bu metalleri regüle edebilmeleri ve balıkların detoksifikasyon mekanizmalarının iyi olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. *Allogamus ligonifer* üzerinde yapılan bir çalışmada, CuO NP'nin sublethal konsantrasyonlarına maruz kalmanın 5 veya 10. gününde büyüme ve beslenme davranışını önemli ölçüde etkilendiği ve CuO NP'den salınan Cu 'nın bunda etkili olduğu belirtilmiştir (Pradhan ve ark., 2012). Linhua ve ark.(2009) TiO₂NP'nin yüksek ortam derişimlerinin etkisine bıraktıkları *C. carpio*'da mortalite'nin olmadığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar TiO₂NP'nin artan konsantrasyonlarının etkisindeki balıklarda solunum güçlüğü ve yüzme sıklığı, 100 mg/L TiO₂NP'nin etkisindeki balıklarda ise fizyolojik değişikliklerin olduğunu gözlemişlerdir.

Suda bulunan kimyasallar, balıklarda solungaç epiteli, sindirim sistemi (besin ve içme) ve deri olmak üzere üç yerden alınarak birikebilir (Pedlar ve Klaverkamp 2002; Handy ve ark. 2008). NP'ler balıklara hasar gören epitel hücre membranı yoluyla doğrudan girebilir ve istenmeyen toksik etkileri indükleyebilirler.

Ağır metaller ve nanopartiküllerin toksik etki göstermesinde önemli faktörlerden biri, balık dokuları tarafından birikim (biyoakümülyasyon) ve eliminasyon potansiyelidir. Metallerin ve nanopartiküllerin birikimi, ortamdaki ağır metal ve nanopartikül konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında, zaman içinde balık organlarındaki metal ve nanopartiküllerin konsantrasyonundaki bir artışı yansıtır. Balık dokularında metallerin birikimi, maruz kalma süresi, derişim, çevre koşulları, diğer maddelerle etkileşim ve ilgili organ gibi çeşitli faktörlere bağlıdır.

Solungaç ve bağırsak, metallerin alınımı ve diğer organlara taşınması için kullanılan organlardır; karaciğer ve böbrek metallerin detoksifikasyon ve elimine edilmesinden sorumlu organlardır (De Boeck ve ark. 2004). Ek olarak, karaciğer ve böbrek, balıklardaki eksojen maddelerin boşaltım fonksiyonuyla görevli organlardır. 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). Kirlетici maddeler su ortamının her tarafında eşit dağılmış olabilir ancak farklı dokularda farklı şekilde birirmektedirler. Doku metabolizmasındaki farklılıklar metal birikiminde önemli rol oynar. Balıklarda, Cu metabolizması ve homeostazı ile ilgili en önemli organlar karaciğer, böbrek ve solungaçlardır.

Karaciğer, kimyasal toksisite indikatörü olarak kullanılır ve sudaki hayvanların su ortamında bulunan toksinlere maruz kalma etkilerini incelemekte yararlı bir organdır (Fernandes ve ark., 2008). Karaciğer, absorbe edilen ksenobiyotiklerle temas eden ana detoksifikasyon organı olarak kabul edilir ve lezyonları sıklıkla su kirlетicilerine maruz kalmayla ilişkilidir (Velma ve Tchounwou 2010). Karaciğer metabolizma ve detoksifikasyon mekanizmalarında rol oynayan hayati bir doku olup kirlетici maddelere karşı çok hassastır, aynı zamanda çeşitli kritik metabolik yollar için temel bir organdır ve detoksifikasyon işlemi sırasında kirlетicilerin biyokimyasal dönüşümlerinde önemli bir rol oynar (Hao ve ark. 2013). Karaciğer önemli bir metal bağlayıcı protein üreticisi olduğundan, metalotiyonin gibi düşük moleküler ağırlıklı metal bağlayıcı proteinlerin indüklenmesi (uyarılması), metal maruziyetleriyle yakından ilişkilidir ve ortamdan alınan metaller, muhtemelen proteinlere bağlanarak detoksifiye edilmektedir (Palaniappan ve Karthikeyan 2009). Öte yandan, karaciğer glikoz metabolizmasında anahtar rol oynar ve hepatositler, glikozu glikojen haline getirir. (Gharaei ve ark., 2011). Tatlı suda kemikli balıklarında Cu solungaç boyunca absorbe edilir ve Cu homeostazının merkezi kompartmanı olarak karaciğere aktarılır (Grosell ve ark. 1997, 1998). Karaciğer Cu'nun safra yoluyla atılımını düzenler ve bu nedenle diğer iç organlara yalnızca sınırlı miktarda Cu geçer (Kamunde ve Wood, 2004).

25 ve 29 µg Cu/L'ye 96 saat maruz bırakılan *Prochilodus. scrofa* balıklarında Cu birikiminin diğer dokulara kıyasla karaciğerde en fazla olduğu ve onu bağırsak ve böbreğin izlediği saptanmıştır (Mazon ve Fernandes, 1999). Araştırmacılar bu organlarda bakır birikiminin yüksek olmasının karaciğer ve böbrek dokusunun, toksik maddelerin detoksifikasyon ve atılımında önemli bir rol oynamasıyla açıklamışlardır. Shaw ve ark. (2012), Cu NP ve CuSO₄ (20 µg/L) 'etkisine 10 gün boyunca bırakılan gökkuşağı alabalığında karaciğerde Cu düzeylerinde ölçülebilir artışlara neden olduğunu, ancak kas, beyin veya dalakta tespit edilebilir bir artış olmadığını belirtmişlerdir. 12.8 uM bakıra maruz bırakılan *Opsanus beta* balığında karaciğer, incelenen dokular arasında en yüksek bakır konsantrasyonunu içerdiği saptanmıştır (Grosella ve ark., 2004). Cd veya Cu ya maruz kalan *O. mykiss*'de karaciğer ve böbrekte önemli miktarda metal biriktiği belirlenmiştir (McGeer ve ark., 2000). CuO NP ve büyük partiküllü CuO etkisine bırakılan *O. niloticus*'da Cu birikimi dokuya özgü karaciğer>böbrek>solungaç>kas şeklinde bir sıra izlemiştir (Abdel- Khalek 2016). Araştırmacılar karaciğerde yüksek Cu birikiminin hepatik dokularda yoğunlaşan düşük moleküler ağırlıklı proteinler ile (metalotiyoninler) ilişkisi nedeniyle olabileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada CuO NP ve CuSO₄ etkisine *O. niloticus*'da denenen tüm süre ve ortam değişimlerinde karaciğer Cu birikimi diğer dokulara oranla daha yüksek olarak bulunmuştur. Derişim artışına ve sürenin uzamasına bağlı olarak bakır birikimindeki artışın daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Karaciğerde bakır birikiminin yüksek olması, diğer metallere kıyasla bakır için hedef organ olması, metal bağlayıcı proteinlere sahip olması ve safra yoluyla bakırın detoksifikasyonundan sorumlu olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Solungaçlar çevreyle doğrudan temas halindedir ve fizyolojik açıdan karmaşık ve savunmasız yapılardır ve suda bulunan toksik maddeler için hedeftirler (Baramaki ve ark. 2012; Nowrouzi ve ark., 2012). Solungaçlar, yüzeyinde bulunan metal bağlama bölgeleri nedeniyle sudan ağır metalleri almada önemli bir dokudur. Büyük bir yüzey alanı ve ince bir epitel bariyeri olan solungaç dokusu, nanopartiküller de dahil olmak üzere, mukoza tabakasında tutulabilen veya epitel hücreleri tarafından alınabilen çevredeki toksik maddeleri için en önemli alım yollarından biridir (Farkas ve ark., 2011; Wu ve Zhou, 2013). Solungaç dokusu, metabolitlerin atılımı, vücut sıvısı geçirgenlik dengesi ve asit-baz dengesi gibi birçok fizyolojik aktiviteye katılan önemli solunum dokusu olduğu iyi bilinmektedir. Ve aynı zamanda ortam suyu ile temas eden ilk dokudur (Hao ve ark., 2013). Solungaçlar solunum ve boşaltım fonksiyonları için çok önemli bir dokudur. Balık solungaçları su kaynaklı kimyasallara maruz kalmada hedef organdır ve bu nedenle biyomonitöring organ olarak kullanılabilir (Lawrence ve Hemingway, 2008). Çevresel su ile temas halinde olan geniş yüzey alanı ve hayvanın dış ve iç ortamını ayıran çok ince bariyer nedeniyle, solungaçların, özellikle tatlı su balıklarında, bakır alımının hedef bölge olduğu düşünülmektedir (Mazon ve Fernandes, 1999).

TiO₂NP ve CuO NP'nin etkisine bırakılan *C. carpio*'da karaciğer ek olarak, solungaçlarda yüksek düzeyde CuO NP biriktiği belirlenmiştir (Mansouri ve ark., 2016). Wang ve ark. (2015) Cu-

NP ve CuSO₄'ün etkisine 25 gün süreyle bıraktıkları juvenil *Epinephelus coioides*' lerin solungaçlarında yüksek konsantrasyonda Cu biriktiğini ve solungaç dokusu Cu'yu almada önemli bir organ olduğunu belirtmişlerdir. ZnO NP etkisine bırakılan *C. carpio*'da solungaç dokusunda, doğrudan solungaç yüzeyi üzerinde nanopartiküllerin adsorpsiyonu ve solungaç membranı boyunca nüfuz etmesiyle önemli düzeyde Zn birikimi olmuştur. Bu nedenle, karaciğer ve solungaç dokusunun ZnO NP'lere maruz bırakılan balıklarda hedef dokular olabileceği sonucuna varılmıştır (Hao ve ark., 2013). Solungaç Cu birikimi, hem CuSO₄ hem de Cu NP'lere maruz kalınan *O. mykiss* de arttığı, ancak CuSO₄ etkisinde birikimin daha fazla olduğu saptanmıştır. (Al-Bairuty ve ark., 2016). Bakırın etkisine bırakılan *O. beta* balığında solungaç bakır konsantrasyonu süreye bağlı olarak sürekli bir doğrusal artış göstermiştir (Grosell ve ark., 2004). Araştırmamızda hem CuSO₄ hem de CuO NP'lerin farklı derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'da solungaç dokusunda yüksek düzeyde bakır biriktiği ve bu birikimin derişim artışına bağlı olarak arttığı saptanmıştır. Solungaç dokusunda bakırın yüksek oranda birikiminin, bu dokunun bakır ile direkt temasta olması ve mukus kaplı solungaç lamelleri ile bakırın kombinasyonundan kaynaklanabilir.

Kemikli balıklarda iki ana epitel (solungaç ve barsak) suda bulunan metallere maruz kalırlar ve bu nedenle metal içeren suyla temastan doğrudan etkilenirler ve aynı zamanda hayvanın metal biriktirmesinde önemli rol oynarlar. Bağırsaklar, su kaynaklı toksik maddelere maruz kalma ile ilgili diğer bir birincil organdır ve bu nedenle toksikolojik çalışmalarda bir biyobelirteç olarak kullanılır (Joo ve ark., 2018). Kirletici maddeler, balıkların birkaç kat daha fazla su içme tepkilerine neden olur ve bu da bağırsakların su kaynaklı kirleticilere karşı hassasiyetini artırır (Di Giulio ve Hinton 2008; Shirdel ve Kalbassi 2016). Hem solungaç hem de bağırsak kontrol değerlerine kıyasla birkaç kat daha fazla konsantrasyonda bakır biriktirdiğinden, bu dokular vücudun bakır alımında önemli dokular olduğu belirtilmiştir (Grosell ve ark., 2004). Bağırsak dokusunun, kemikli balıklarda Cu alımında önemli bir yol olduğu (Handy ve ark., 1999) ve balık bağırsağının, besinleri almak için emici boşluklar oluşturan bir epitel olarak partikül alımına katkıda bulunduğu belirtilmiştir (Al-Bairuty ve ark., 2013). Buna ek olarak, organizmalarda besin yoluyla bağırsak duvarından alımının da önemli bir yol olduğu belirtilmiştir (Gaiser ve ark., 2012). ZnO NP'leri, küçük boyutları nedeniyle bağırsak duvarı boyunca daha kolay nüfuz etmekte ve kan dolaşımı yoluyla diğer dokulara taşınmaktadır. (Hao ve ark., 2013). Mazon ve Fernandes, (1999) bağırsaklarda bakır birikiminin, gastrointestinal sistem içine safra ile atılan bakırın kontaminasyonu yoluyla, solungaçlardan absorbe edilen bakırın dolaşım sistemi vasıtasıyla bağırsağa taşınması yoluyla olmak üzere iki şekilde olduğunu bildirmişlerdir.

Zhang ve Wang (2007b), Zn etkisine bırakılan *Acanthopagrus schlegeli* balığının gastrointestinal sisteminde Zn birikiminin arttığını bildirmişlerdir. Tatlı suda, 15 ve 75 µg/L Zn'ye 7 gün süreyle bırakılan *Fundulus heteroclitus* balıklarının bağırsaklarında kontrole kıyasla önemli düzeyde Zn artışı olduğu gözlemlenmiştir (Shyn ve ark., 2012). Araştırmacılar bağırsaklardaki yüksek Zn miktarı, muhtemelen boşaltım ve detoksifikasyon yollarının bir sonucu olduğunu bildirmişlerdir.

Bağırsaklardaki yüksek Zn birikiminin diğer bir kaynağı safra kesesidir çünkü bu organın safra yolu ile bağırsağa Zn gönderdiği gösterilmiştir. Bielmyer ve ark. (2006), 21 günlük subletal Cu maruziyetinden sonra *Morone saxatilis* in bağırsağında belirgin bakır birikiminin olduğunu bildirmişlerdir. Pb'nin etkisine bırakılan *Carassius auratus*'da solungaçlara ek olarak, bağırsaklarında bir alım yolu olduğu bildirilmiştir (Tao ve ark., 1999). 60 gün süreyle bakırın farklı derişimlerine bırakılan *T. nilotica*'da ve *C. carpio*'da bağırsaklarda solungaç ve kas dokusuyla kıyaslandığında daha fazla bakırın biriktiği belirtilmiştir (Erdem ve Kargın, 1992). Bakırın etkisine 96 saat süreyle bırakılan *P. scrofa*'da balıklarında bağırsakta önemli düzeyde Cu birikiminin olduğu belirlenmiştir (Mazon ve Fernandes, 1999). Bu çalışmada CuSO₄ hem de Cu NP'lerin farklı derişimlerinin etkisine 7 ve 21 günlük sürelerle bırakılan *O. niloticus*'da barsak dokusu Cu birikiminin solungaç ve kas dokularına göre yüksek olduğu saptanmıştır. Bağırsak bakır birikiminin derişim artışına bağlı olarak artarak devam ettiği saptanmıştır. Balıkların bağırsaklarındaki bakır birikimi, büyük bir olasılıkla atık maddelerinden ve strese bağlı olarak içilen sudaki bakırdan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tatlısu balıklarında metal birikimi üzerine yapılan çalışmaların büyük bir bölümünde, kas dokusunun en düşük düzeyde metal biriktiren bir doku olduğu belirlenmiştir (Erdem ve Kargın, 1992; Mazon ve Fernandes, 1999; Grosell ve ark., 2004; Mansouri ve ark., 2016). Kas dokusunda metallerin biyolojik olarak birikimi ancak karaciğerin maksimum depolama kapasitesine ulaşması durumunda belirgin hale geldiği iddia edilmektedir (Kim ve ark., 2011). Bakırın düşük derişimlerinin etkisine 96 saat süreyle bırakılan *P. scrofa*'da bakır birikiminin olmadığı belirlenmiştir (Mazon ve Fernandes, 1999). *Prochilodus lineatus*'ta Pb dağılımı, 6 saatlik maruz kalmanın ardından böbrek> solungaçlar> karaciğer> kan> kas şeklinde olup, tüm deney süresince aynı kalmıştır (Ribeiro ve ark., 2014). TiO₂NP ve CuO NP'nin etkisine bırakılan *C. carpio*'da diğer dokulara kıyasla balık kasında daha düşük Cu birikimi olduğu gösterilmiştir (Mansouri ve ark., 2016). Bakırın etkisine 30 gün süreyle bırakılan *O. beta* balığında kas dokusunda bakır birikiminin düşük olduğu saptanmıştır (Grosella ve ark., 2004). Kurşunun etkisine bırakılan *Catla catla*'da kas dokusu Pb birikiminin diğer dokulara oranla düşük olduğu belirlenmiştir (Palaniappan ve ark., 2009). Araştırmacılar kas dokusu kütlelerinin, analiz edilen diğer dokulardan çok daha büyük olmasına rağmen Pb'nin düşük miktarda birikimini metalin balığın diğer dokularına dağılması nedeniyle olabileceğini belirtmişlerdir. Bu araştırmada denenen tüm CuO NP ve CuSO₄ derişimlerinde ve denenen her iki sürede *O. niloticus*'da kas dokusu Cu birikiminin diğer dokulara oranla çok düşük düzeyde olduğu saptanmıştır. Bu dokuda Cu birikiminin düşük düzeyde olması, karaciğer, solungaç ve barsak gibi diğer dokularla karşılaştırıldığında kas dokusunun metabolik aktivitesinin daha düşük olmasına bağlı olabilir

Cu NP'lerin fizikokimyasal özellikleri, çözünürlükleri, çok küçük boyut ve yüzey alanları nedeniyle diğer bakır tuzlarına (CuSO₄; CuCl₂) oranla balıklar üzerindeki toksik etkileri ve dokulardaki birikimleri farklılık göstermektedir ((Griffitt ve ark., 2007.; Chen ve ark., 2011; Al-Bairuty ve ark., 2013; Isani ve ark., 2013). İyonik bakır (CuSO₄) ve nano-bakırın (Cu NP) balıklar

üzerinde farklı etkilerinin büyük olasılıkla vücuda giriş yollarının farklı olmasından kaynaklanabilir. Hedayati ve ark. (2016), İyonik bakırın(CuSO_4) esas olarak balık solungaçları tarafından absorbe edildiğini gösterirken, nano-bakırın (Cu NP) bağırsak yoluyla daha fazla absorbe edildiğini göstermişlerdir. Griffitt ve ark. (2007), solungaçın Cu-NP 'lerin toksisitesinden etkilenen ilk hedef doku olduğunu ve zebra balığında nano- Cu 'nun çözünebilen Cu 'ya göre daha akut toksik etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir. *D. rerio*'da $\text{Cu}_2\text{O NP}$ ve CuCl_2 'nin 96 saatlik LC_{50} değerlerinin karşılaştırıldığı bir araştırmada, $\text{Cu}_2\text{O NP}$ 'nin toksisitesinin CuCl_2 'nin toksisitesinden daha düşük olduğu bulunmuştur (Chen ve ark., 2011). Araştırmacılar, $\text{Cu}_2\text{O NP}$ ve CuCl_2 'nin *D. rerio* balıklarına ve larvalarına toksisitesi arasındaki farklılıkların $\text{Cu}_2\text{O NP}$ 'nin özelliklerine ve bakır taşınım yoluna bağlı olduğu belirlemişlerdir. CuO NP ve çözünmüş Cu 'nun *Apistogramma. agassizii* ve *Paracheirodon. axelrodi*'de LC_{50} değerlerinin belirlenmesi ilgili yapılan bir çalışmada CuO NP LC_{50} ' değeri *A. agassizii* için $58.31 \mu\text{g/L}$ ve *P. axelrodi*'de $69.6 \mu\text{g/L}$ ve Cu için *A. agassizii* $20 \mu\text{g/L}$ ve *P. axelrodi*'de $22.9 \mu\text{g/L}$ olarak saptanmıştır. Araştırmacılar her iki türde de CuO NP 'nin çözünmüş Cu 'ya oranla daha az toksik olduğunu belirlemişlerdir (Braz-Mota ve ark., 2018). Bu sonuçlar, CuO NP 'nin Cu^{+2} ile karşılaştırıldığında düşük kullanılabilirlik (mevcut olma) kapasitesine sahip olduğu ve bu nedenle su kütlelerine daha az zarar verebileceğini düşündürmektedir (Braz-Mota ve ark., 2018). Bu araştırmada CuO NP ve CuSO_4 'ün denenilen tüm ortam derişimleri *O. niloticus*'da toksisiteye neden olmadığı belirlenmiştir.

Wang ve ark. (2015) Cu-NP ve CuSO_4 'ün etkisine 25 gün süreyle bıraktıkları juvenil *Epinephelus coioides*'lerde solungaçlarda yüksek düzeyde bakır biriktiğini, CuSO_4 birikiminin Cu-NP 'lerin birikiminden daha fazla olduğunu saptamışlardır. *O. mykiss*'de CuO NP ve CuSO_4 'ün karşılaştırmalı toksisitesi ile ilgili yapılan bir çalışmada, CuO NP 'ye göre CuSO_4 'ün etkisindeki balıkların solungaçlarda daha yüksek konsantrasyonlarda bakır birikimi olduğu belirtilmiştir (Isani ve ark., 2013). Al-Bairuty ve ark. (2016). Solungaç Cu birikiminin, hem CuSO_4 hem de Cu-NP 'lere maruz kalan *O. mykiss*'de arttığını, ancak CuSO_4 etkisinde birikimin daha fazla olduğunu saptamışlardır. 10 gün süreyle CuSO_4 ve Cu-NP 'lerin $20 \mu\text{g/L}$ etkisine bırakılan *O. mykiss*'de Cu-NP etkisindeki balıklara oranla CuSO_4 'ün etkisinde kalan balıkların solungaçlarında yaklaşık 2 kat daha fazla Cu birikmiştir (Shaw ve ark., 2012). Araştırmacılar Cu-NP etkisindeki balıklarda bakır birikiminin düşük olmasının, Cu-NP 'in bulunduğu süspansiyondaki balıkları tarafından bakır absorpsiyonun düşük olmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir. $20 \mu\text{g/L}$ CuSO_4 ve Cu-NP 'ye maruz kalan *O. mykiss*'de 10. günde karaciğerde Cu birikimi CuSO_4 'ün etkisinde Cu-NP 'ye oranla yaklaşık 2 katlık bir artış gösterirken, $100 \mu\text{g/L}$ CuSO_4 ve Cu-NP 'lerin ortam derişiminin etkisinde bırakılan *O. mykiss*'de CuSO_4 'ün etkisine bırakılan balıkların aksine, Cu-NP etkisine bırakılan balıkların karaciğerinde Cu birikmemiştir (Shaw ve ark., 2012). Bu, solungaç dokusunda bulunan Cu-NP 'lerin, karaciğer veya diğer iç organlarda birikimi için Cu 'nun yeterli miktarda kana geçmediğini düşündürmektedir. $\text{Cu}_2\text{O NP}$ ve CuCl_2 'nin etkisine bırakılan *D. rerio*'da bakır birikiminin, $\text{Cu}_2\text{O NP}$ etkisinde kalan balıklarının karaciğerinde CuCl_2 'nin etkisinde kalanlarla

benzer düzeylerde olduğu ve hatta CuCl_2 'ye maruz kalan zebra balık larvalarından bile daha yüksek olduğu saptanmıştır (Chen ve ark., 2011). Wang ve ark. (2015) Cu-NP ve CuSO_4 'ün 20 ve 100 $\mu\text{g/L}$ derişimlerin etkisine 25 gün süreyle bıraktıkları *E. coioides*' lerde karaciğerde CuSO_4 'ün, Cu NP 'ye oranla daha etkili olduğunu belirtmişlerdir. Cu-NPs ve CuSO_4 'ün farklı derişimlerinin etkisine bırakılan *O. mykiss*'de 4. günde yüksek Cu-NP derişiminin etkisindeki balıklarda barsak bakır düzeyi CuSO_4 'ün etkisindeki balıklara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Shaw ve ark., 2012). Araştırmacılar, bağırsaklarda Cu-NP 'nin bakırın yüksek düzeyde birikimini, stresin indüklendiği Cu-NP ile kontamine suların içilmesinden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. *O. mykiss*'de Cu-NP ve CuSO_4 'ün etkisini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada 20 $\mu\text{g/L}$ 'ye maruz kalmanın sonunda bağırsak dokusundaki bakır konsantrasyonlarının her iki bakır forumunda da benzer olduğu saptanmıştır (Al-Bairuty ve rak., 2013). Cu-NP ve CuSO_4 'ün farklı derişimlerinin etkisine bırakılan *O. mykiss*'de kas dokusu bakır birikiminin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirtilmiştir (Shaw ve ark., 2012). *O. mykiss*'de Cu-NP ve CuSO_4 'ün etkisinde kas dokusunda Cu birikiminin her iki bakır forumunda da ölçülebilir bir artış göstermediği saptanmıştır (Al-Bairuty ve rak., 2013).

Bu araştırmada da karaciğer ve barsak dokusunda 21. günde ve denenen ortam derişimlerinde CuO NP etkisindeki balıklarda bakır birikimi CuSO_4 'e oranla daha fazla olurken, 7. günde düşük ortam derişimde barsak dokusunda bakır birikiminin benzer olduğu saptanmıştır. Solungaç dokusunda denenen her iki süre ve ortam derişiminde bakır birikimi CuO NP etkisinde CuSO_4 'e oranla daha fazla olmuş, kas dokusunda ise 7. günde yüksek ortam derişiminde bakır birikimi bakımından her iki bakır forumu arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. Metaller arasındaki farklılık CuO NP 'nin küçük boyutlu ve geniş yüzey alanına sahip olması ve deneyler sırasında CuO NP 'den metalik iyonun ayrılarak çözeltide serbest kalması sonucu olabileceği düşünülmektedir.

Osmo ve iyon regülasyonu, bir hayvanın hücrel metabolizmasında çok önemli bir rol oynar ve onun dengesizliği çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal fonksiyonlarda değişikliklere neden olur (Moorthy ve ark. 1984). Sucul kirleticiler solungaç membranının geçirgenliğini değiştirerek iyon regülasyonunda veya osmoregülasyon işlevinde değişiklikler meydana getirebilmektedir (Sathya ve ark., 2012). Metal nanopartiküller ve ağır metaller balıklarda osmoregülasyonun sürdürülmesinde işlev yapan parametreler üzerine olumsuz etkilere neden olmaktadır. Bu parametreler arasından iyon taşınmasında görev yapan enzimler (Na , K-ATPaz ve Ca , Mg-ATP azlar) ve hormonlar (aldesteron, kortizol ve prolaktin) önem taşımaktadır.

Bazı stres faktörlerine maruz kalan balıklarda osmoregülasyon değişiklikleri genellikle doku ve kan plazması sodyum, potasyum, kalsiyum, klorür ve/veya toplam ozmolaritenin ölçülmesiyle aydınlatılır (Heath, 1987). Sodyum, potasyum ve kalsiyum sadece vücut sıvılarında osmoregülasyonunun sürdürülmesi için önemli değil (Baskin ve ark., 1981), aynı zamanda besin maddelerinin bağırsak hücrelerinde taşınması (Crane, 1977) ve beyindeki nörotransmitterlerin alınması için de gerekli iyonlardır (Iverson ve Kelly, 1975). Sodyum, potasyum ve klorür ozmolarite ve plazmanın ozmotik basıncının korunmasından sorumlu iyonlardır (Meyer, 1988).

Tatlı su balıkları hiperozmotiktir ve iyon/osmoregülasyon süreçlerinin yardımıyla fizyolojik süreçleri ve vücut sıvısı homeostazisini korurlar (Hwang ve Lee, 2007). Na, K ve Cl gibi iyonlar vücut sıvıları boyunca dağılır ve nöromusküler (sinir-kas) duyarlılık, koenzim, hücrenin asit-baz dengesi ve osmotik basınç gibi dokunun normal işlevleri için kullanılmaktadırlar (Suvetha ve ark., 2010).

Balıklarda solungaç, böbrek ve bağırsak gibi dokular osmoregülasyon işlevinin gerçekleştiği ve iyon hareketlerinin düzenlendiği dokulardır (Pelgrom ve ark., 1995; De La Torre ve ark., 2000). Bu dokular balıklarda iyon dengesini koruyarak dış ortam koşullarındaki değişikliklere uyum sağlamada büyük öneme sahip dokulardır. Sodyum (Na^+), potasyum (K^+) ve klorür (Cl^-) gibi elektrolitler, çevresel değişimlere karşı oldukça duyarlıdır ve bunların ölçümü, suda yaşayan organizmalarda kimyasal maddelerin etkilerinin belirlenmesinde potansiyel biyomarkırlar olarak kabul edilmektedir (Mayer ve ark., 1992). Na^+ ve K^+ iyonları, hücre işlevinin korunmasında önemli bir rol oynamakta ve Na^+ ve K^+ 'nın dengesizliği sinir ve kas fonksiyonuna zarar verir (Liu ve ark., 2014). K^+ , hücre içi ve hücre dışı sıvıların osmotik ve iyon regülasyonu için önemli bir iyondur, Na^+ , ozmotik basıncın korunmasında önemli rol oynayan bir iyondur (Smikiss ve Taylor, 1989). Balıklarda solungaç epiteli boyunca Na^+ absorpsiyonu, dış ortamdan iyon kanalları veya protein taşıyıcıları yoluyla olmaktadır (Handy ve ark. 2002). Buna ek olarak, solungaç Na^+ alımı, Na, K-ATPaza bağlı Na^+ 'nın içeri girmesi sonucu olmakta, Na^+ 'nın dışarıya çıkışı ise pasif difüzyon yoluyla (Wood 1992) veya bazolateral membran üzerinde bir $\text{Ca}^{++}/\text{Na}^+$ değişimi vasıtasıyla olmaktadır (Verbost ve ark., 1994). Balıklarda Na ve Cl gibi iyonların girişinin engellenmesi; apikal yüzeyde alım için rekabet, Na kanallarında Na alımının inhibisyonu, Na kanalını polarize ettiği düşünülen apikal H ATPaz inhibisyonu, karbonik anhidraz inhibisyonu ve bazolateral zardaki Na, K-ATPaz'ın inhibisyonu olmak üzere çeşitli şekillerde olabilir (Rogers ve ark., 2003). Tatlısu balıklarında sodyumun içeriye girişi (hücre içi Na), dıştaki Na konsantrasyonuna bağlıdır (Goss and Wood, 1990).

Küçük iyonik yarıçapından dolayı Cu^{+2} , Cu-spesifik kanalları veya Na^+ kanalları yoluyla alınmaktadır (Handy ve ark. 2002). Cu, bazolateral Na^+/K^+ -ATP az aktivitesini ve Na^+ girişini engelleyebilir ve Na^+ kaybına neden olabilir (Handy ve ark., 2002). Cu, Na^+ pompasının (solungaçlarda, bağırsaklarda ve beyinde) inhibisyonuna neden olduğu belirtilmiştir (Lauren ve McDonald, 1987; Li ve ark.,1998), çözünmüş Cu toksisitesinin ana hedefi Na^+ homeostazisidir (Grosell ve ark., 2002; Handy ve ark., 2002). Na^+ pompasının Cu'ya bağlı inhibisyon mekanizması, Cu iyonlarının ATPazın protein alt birimlerine bağlanması ve/veya enzimin Mg bağlanma yerine müdahale etmesi sonucu olmaktadır (Li ve ark., 1996). *Oreochromis mossambicus*'da letal Cu (2 mg/L) konsantrasyonu Na^+ homeostazisini bozmuştur; 0.2 mg/L Cu etkisinde, tüm vücut Na^+ konsantrasyonu, 72 saatte yaklaşık % 50 oranında azaldığı belirlenmiştir (Wu ve ark., 2008). 200 $\mu\text{g/L}$ Cu'nun etkisine bırakılan *O. mossambicus*'da solungaçlarda Na^+ girişinin engellendiği ve vücut Na^+ düzeyinin azaldığı belirtilmiştir (Pelgrom ve ark., 1995). 50 $\mu\text{g/L}$ Cu'nun etkisinde *Paracheirodon axelrodi*'de Na^+ , K^+ ve Cl^- azalmalar olduğu belirtilmiştir (Crémazy ve ark., 2016).

Cu ve CuNP'ya maruz kalan *P. axelrodi* oksijen tüketiminde artış, tüm vücut Na^+ ve K^+ düzeylerinde azalma, oksidatif strese artış ve solungaç epitelinde ciddi hasar sergilemiştir (Braz-Mota ve ark., 2018). Poopal ve ark. (2013), HgCl 'nin farklı derişimlerinin etkisine bıraktıkları *Cirrhinus mrigala*'nın solungaç ve beyin dokularında Na^+ ve K^+ iyon düzeylerinin azaldığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar solungaç dokusunda Na^+ ve K^+ iyon düzeylerindeki azalmanın solungaçta HgCl 'nin birikimi ve toksik etkisinden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Cd'un farklı derişimlerine bırakılan *Carassius auratus*'da Cd'un düşük konsantrasyonunun, ince bağırsakta ve solungaçta Na ve K' yı belirgin olarak arttırdığını, buna karşın Cd'un daha yüksek konsantrasyonu ise Na^+ düzeyini düşürdüğü gösterilmiştir. Solungaç ve ince barsak fonksiyonu, etkide kalma süresinin uzamasıyla Cd'dan etkilendiği belirlenmiştir (Liu ve ark., 2014). Deltametrinin subletal konsantrasyonunda Na^+ ve K^+ düzeyleri, *C. mrigala* balıkların solungaç, karaciğer ve kas dokularında Na^+ K^+ -ATPaz aktivitesinin 1. gün ve 10. günlerdeki inhibisyonu ile önemli ölçüde azalmıştır (David ve ark., 2014). Johari ve arkadaşları (2013), gökkuşağı alabalıklarının 2,16 mg / L AgNP'nin etkisinde Na, K ve Cl düzeylerinin önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir. Cu, Cd ve Zn'nin etkisine bırakılan *O. mykiss* 'de Cu ve Cd etkisinde dokularda iyon düzeyleri metal birikimiyle azalmıştır (McGeer ve ark., 2000). Kadmiyumun letal konsantrasyonlarına bırakılan *C. carpio*'nun kas dokusunda sodyum, potasyum ve kalsiyum iyon düzeylerinde azalma olduğu belirlenmiştir (Suresh ve ark., 1995). Araştırmacılar bu azalmanın Cd'un etkisinde solungaç doku hasarına bağlı olarak hücre zarlarının geçirgen özelliklerinde değişikliklerden ve/veya Na^+ - K^+ iyon pompasının bozulmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Bu çalışmada *O. niloticus*'da denenen her iki ortam derişiminde 7 ve 21 günlük süreler sonunda karaciğer, solungaç, bağırsak ve kas dokularında Na^+ düzeyi hem CuO NP hemde CuSO_4 'ün etkisinde kontrole oranla azalma gösterdiği belirlenmiştir. 21. günde bu azalmalar CuO NP'ün etkisinde karaciğer ve solungaç dokularında derişim artışına paralel olarak daha da fazla olmuştur. Bakırın bu iki forumunun dokularda Na^+ düzeyi üzerine etkisi kıyaslandığında CuO NP ve CuSO_4 'ün etkileri arasında farklılıklar gözlenmemiştir. Karaciğerde 7 günlük sürede her iki derişimde ve 21 günlük sürede ise düşük ortam derişiminde Na^+ düzeyindeki azalma CuO NP'ün etkisindeki balıklarda CuSO_4 'e oranla önemli olduğu belirlenmiştir. Barsak, solungaç ve kas dokularında ise Na^+ düzeyindeki azalma CuSO_4 'ün etkisindeki balıklarda CuO NP'e oranla önemli olduğu belirlenmiştir. Dokularda Na^+ iyonu göz önünde bulundurulduğunda genel olarak CuO NP'nin CuSO_4 'e oranla daha etkili olduğu belirlenmiştir. Dokularda Na^+ düzeyindeki bu azalma CuO NP ve CuSO_4 'ün solungaç dokusu üzerine etkisi nedeniyle osmoregülasyonun bozulması, Na^+ K^+ -ATPaz aktivitesinin engellenmesi, solungaç geçirgenliğinde değişiklikler oluşturmaları ve solungaç dokusuna Na^+ girişini engellemesi sonucu olduğu düşünülmektedir. Ek olarak, CuO NP ve CuSO_4 'ün iyon regülasyonu ve osmoregülasyonu bozarak dokulardaki iyon düzeylerinde bir azalmaya neden olabileceği düşünülmektedir.

O. niloticus'da 7 ve 21 günlük sürede CuO NP ve CuSO₄'ün her iki ortam deriminde karaciğer, solungaç, bağırsak ve kas dokularında K⁺ düzeyi kontrole oranla azalma göstermiştir. Her iki Cu forumunda da solungaç ve kas dokularında K⁺ düzeyindeki bu azalmalar derişim artışına paralel olarak daha yüksek olmuştur. CuO NP ve CuSO₄'ün dokularda K⁺ düzeyi üzerine etkisi kıyaslandığında CuSO₄'ün etkisinde kalan balıkların dokularında K⁺ düzeyindeki azalma CuO NP'ün etkisinde kalanlara oranla daha fazla olmuştur. Karaciğerde 7 ve 21 günlük sürelerde, solungaç ve bağırsak dokusunda ise 7 günlük sürede K⁺ düzeyindeki azalma CuSO₄'ün etkisindeki balıklarda CuO NP 'e oranla önemli olduğu belirlenmiştir. Dokularda K⁺ iyonu göz önünde bulundurulduğunda genel olarak CuSO₄'ün CuO NP 'e oranla daha etkili olduğu belirlenmiştir. Cu solungaç membranında ATP aza bağlanarak Na kanalı vasıtasıyla hücrelere girmekte ve Na⁺ K⁺-ATP azı bloke ederek Na ve K⁺ 'un kan ve diğer dokularda azalmasına neden olmaktadır. Dokularda K⁺ düzeyindeki bu azalma solungaç dokusunda bakırın birikimi ve toksik etkisi nedeniyle Na⁺, K⁺-ATPaz aktivitesinin engellenmesi sonucu K⁺ iyonunun vücuda daha az girişinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Ca⁺⁺ ve Mg⁺⁺ iyonları, farklı kimyasal nörotransmitterlerin salınımı gibi birçok fizyolojik işlevin düzgün çalışması için hayati öneme sahip iyonlardır. Ca ve Mg iyonları birçok metabolik yolda önemli rol oynarlar. Kalsiyum iyonları nöronlardan transmitterlerin salınımı için gereklidir. Ca⁺⁺ hücre içi ve hücre dışı sıvıların ozmotik ve iyon regülasyonu için gerekli bir iyondur (Simkiss ve Taylor, 1989). Ca⁺⁺ plazma zarından kanallar yoluyla girer ve hücrelerin fizyolojik işlevlerinin düzenlenmesine katılır. Hücre zarının bütünlüğü, hücre içi çimento maddesi olarak ve solungaç geçirgenliğinin stabilizasyonu için gerekli olan Mg iyonları transepitelyal (epitellerarası) regülasyonundan sorumludur (Parvez ve ark. 2006). Mg, balıklarda regüle edilebilen bir iyon olup, normal olarak hücresel ve enzimatik fonksiyonların sürdürülmesi için 1 mM'nin altında korunması gerekir (Bijvelds ve ark., 1998). Balıklar kalsiyumu, solungaçlar (iyon taşıma hücreleri) ve bağırsaklar olmak üzere iki bölgeden almaktadırlar. Solungaçlarda Ca girişi, hormonal kontrol, spesifik iyon kanalları ve bazolateral membranlarında ATPazların vasıtasıyla olmaktadır (Flik ve ark., 1985; McDonald ve ark., 1989). Ca⁺² 'un epitelyal Ca⁺² kanalları yoluyla solungaç dokusuna girişini sağlayan Ca⁺²- ATPaz dır (Shahsavarani ve ark., 2006).

1.0 ve 5.0 mg/L Cd'un etkisine bırakılan *C. auratus*'da solungaç Ca⁺⁺ düzeyinin her iki ortam derişiminde de azaldığı, ince barsakta ise 1.0 mg/L Cd ortam derişiminde artış gösterdiği, 5.0 mg/L ortam derişiminde ise azaldığı belirtilmiştir (Liu ve ark., 2014). Cu, Cd ve Zn'nin farklı ortam derişimlerinin etkisine bırakılan *O. mykiss* 'de vücut Ca⁺⁺ iyon düzeyi her bir metalin etkisinde azaldığı saptanmıştır (McGeer ve ark., 2000). Araştırmacılar Ca girişinin Cd kaynaklı inhibisyonunun, apikal alım kanalında Ca ile Cd'un rekabeti ve Ca-ATP az inhibisyonundan kaynaklandığını belirtmişlerdir. Pb ve Cd karışımlarının etkisine bırakılan *O. mykiss*'de Cd'nin Ca düzeyinin azalması üzerine etkisi, bağlanma bölgeleri için Cd ve Ca arasındaki rekabetin yanı sıra solungaçtaki Ca-ATPazın Cd tarafından inhibisyonu sonucu olduğu belirtilmiştir (Birceanu ve ark.,

2008). Kaya ve ark. (2016), ZnNP etkisine bıraktıkları *O. niloticus*'da kontrol gurubuna oranla çinko nanopartiküllerin etkisindeki balıkların solungaç dokusunda Ca^{++} düzeyinin artış gösterdiğini ve osmoregülasyonu bozduğunu belirtmişlerdir. Deltametrinin düşük konsantrasyonunda *C. mrigala* balıkların solungaç, karaciğer ve kas dokularında Ca^{++} düzeyinin azaldığı saptanmıştır (David ve ark., 2014). Cu ve Pb'nin farklı derişimlerine bırakılan *C. carpio*'da karaciğer ve kas dokusu Mg^{++} düzeyleri tüm derişimlerde artarken, solungaç dokusu Mg^{++} düzeyi kurşunun etkisinde değişmediği, bakırın etkisinde ise 20. günde tüm derişimlerde arttığı saptanmıştır (Çoğun, 2008).

O. niloticus ile yürütölen bu araştırmada 7 ve 21 gün süreyle CuO NP ve $CuSO_4$ 'ün etkisine bırakılan balıkların karaciğer dokusunun yüksek ortam derişiminde (1.0 mg/L), solungaç dokusunda ise her iki ortam derişiminde Ca^{++} düzeyi kontrole göre azalırken, bağırsak ve kas dokularında ise denenen her iki süre ve ortam derişiminde Ca^{++} düzeyi kontrole göre arttığı belirlenmiştir. Çalışılan her iki sürede de $CuSO_4$ 'ün etkisinde bağırsak ve kas dokularındaki Ca^{++} düzeyindeki artış derişim artışına paralel olarak daha yüksek olmuştur. 7 ve 21 gün süre ile CuO NP'ün etkisine bırakılan balıkların solungaç dokusundaki azalma derişim artışına paralel olarak daha fazla olmuştur. CuO NP ve $CuSO_4$ 'ün dokularda Ca^{++} düzeyi üzerine etkisi kıyaslandığında CuO NP'ün etkisinde kalan balıkların dokularında Ca^{++} düzeyindeki azalmalar $CuSO_4$ 'ün etkisinde kalanlara oranla daha fazla olmuştur. Dokularda Ca^{++} iyonu göz önünde bulundurulduğunda genel olarak CuO NP'ün $CuSO_4$ 'e oranla dokularda Ca^{++} iyonu üzerine daha etkili olduğu belirlenmiştir.

CuO NP ve $CuSO_4$ 'ün 7 ve 21 gün süreyle etkisine bırakılan balıkların karaciğer, bağırsak ve solungaç dokularında Mg^{++} düzeyinin kontrol balıklarına oranla azaldığı kas dokusunda ise genelde bir artış gösterdiği belirlenmiştir. 7 günlük sürede CuO NP ve $CuSO_4$ 'ün etkisinde bağırsak dokusunda ve CuO NP'ün etkinde karaciğer dokusunda Mg^{++} düzeyindeki azalma derişim artışına paralel olarak daha fazla olduğu saptanmıştır. CuO NP ve $CuSO_4$ 'ün dokularda Mg^{++} düzeyi üzerine etkisi kıyaslandığında 21 günlük sürede düşük ortam derişiminde CuO NP'ün etkisinde kalan balıkların karaciğer, bağırsak ve solungaç dokularında Mg^{++} düzeyindeki azalmalar $CuSO_4$ 'ün etkisinde kalanlara oranla daha fazla olmuştur. Genel olarak CuO NP'ün $CuSO_4$ 'e oranla dokularda Mg^{++} iyonu üzerine daha etkili olduğu saptanmıştır. Dokulardaki iyon düzeylerindeki bu artış veya azalmalar, CuO NP ve $CuSO_4$ 'ün iyon regölasyonu ve osmoregülasyonu bozarak dokulardaki iyon düzeylerini değiştirmesi nedeniyle olabileceği düşünülmektedir. Dokularda Ca^{++} ve Mg^{++} düzeyindeki bu değişiklikler CuO NP ve $CuSO_4$ 'ün solungaç membranında ATP aza bağlanarak Ca, Mg-ATP azı bloke ederek Ca ve Mg 'un dokularda azalmasına veya artışına neden olduğu düşünülmektedir.

Ağır metal etkisine bırakılan organizmlarda, dokulardan iyon akışının ve solungaçlarda aktif iyon alımının hasar görmesi sonucu elektrolit kaybının olduğu belirtilmiştir (Lauren ve McDonald, 1987; Garcia-Santos ve ark., 2006). Bu çalışmada $CuSO_4$ ve CuO NP'in dokulardaki birikimi, iyon düzeylerinde gözlenen değişikliklerin nedeni olarak kabul edilebilir. İyon düzeyleri dokuya, metalin cinsine ve etkide kalınan süreye bağlı olarak değişiklik göstermiştir.

Balıklarda enzimler, kirlilik izleme yöntemleri için uygun parametreler olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. ATPazlar tüm hücre zarlarında mevcut ve hücrelerde iyon konsantrasyonlarını düzenleyen enzimlerdir. ATPaz sistemi, farklı iyonların hücre içindeki zardan taşınmasından sorumludur, ek olarak tuz ve su homeostazisinin sağlanmasında, elektrolit olmayanların taşınmasına önemli ölçüde yardımcı olur (Kundu ve ark., 1995). ATPazların, hücrenin fizyolojik gereksinimlerini sürekliliği için membran boyunca farklı iyonların girişini ve çıkışını düzenlemektedir (Thaker ve ark., 1996). ATPaz sistemi uzun bir süreden beri toksik bileşikler için bir hedef olarak tanımlanmış ve ağır metallerin veya toksik organik bileşiklerin neden olduğu inhibisyon, enzimin hücresel membran konfigürasyonunun değişmesine neden olmaktadır (Wells ve ark., 1974). Balıklarda ATPazlar solungaçlarda iyon dengesinin korunmasında görev alır ve toksik maddelerin ATPaz sistemi üzerindeki etkisi balıkların osmoregülasyon kapasitesini bozabilmektedir (Dalela ve ark., 1978). ATPazların akut ve kronik metal maruziyetlerine tepkisi, maruz kalma tiplerine, konsantrasyona, süreye ve doku çeşidine göre değişmektedir

Na^+ , K^+ -ATPaz, hücrenin iç dengesini sürdürmede ve vücuttaki Na^+ ve K^+ düzeyinin regülasyonundan sorumlu çok önemli bir enzimdir (Federici ve ark., 2007). Na^+ , K^+ -ATPaz, monovalent katyonların (Na^+ ve K^+) zar boyunca aktif taşınmasında önemli bir rol oynar (Jorgensen ve ark., 2003). Na^+ , K^+ -ATPaz, hücrenin fizyolojik bozukluğunu anlamak için bir markır enzim olarak kabul edilmektedir (Martine ve Arivoli, 2008). Tatlı su organizmalarında Na^+ , K^+ -ATPaz enzimi, solungaç epitel hücrelerinde bulunan ve aktif olarak iyon regülasyonunda yer alan bir membran enzimidir (Dang ve ark., 2000; Parvez ve ark., 2006). Kemikli balıklarda, solungaç Na^+ , K^+ -ATPaz, elektrolitlerin hücre dışı ve hücre içi ortamlar arasında aktif iletiminde önemli bir rol oynamaktadır (McCormick, 1993). Bu nedenle, bu enzimin aktivitesindeki değişiklikler plazma elektrolit düzeylerini değiştirebilir (Katuli ve ark., 2014). Solungaç Na^+ , K^+ -ATPaz balıklarda aktif Na ve K transportunu katalize eden ve solungaç epitelyumunda bir itici güç sağlayan membrana bağlı bir enzimdir (De la Torre ve ark., 2007). Hücrenin iyon homeostazisinin korunmasında sorumlu önemli bir anahtar transmembran enzim olan Na^+ , K^+ -ATPaz, metal ve metal nanopartiküllerin etkisiyle ortaya çıkan peroksidatif hasar nedeniyle kısmen inaktive olabilir. Na^+ , K^+ -ATPaz'ın osmoregülasyondaki öneminden dolayı ağır metaller tarafından bu enzimin inhibisyonu hücre zarındaki iyon taşıma sürecinde değişikliğe neden olabileceği düşünülmektedir (Gilles, 1979).

Balıklar ağır metal ve metal nanopartiküllerin olumsuz etkilerine karşı fizyolojik ve biyokimyasal tepkiler göstermektedirler. Balıklarda metal ve metal nanopartiküllerin etkisinde Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinin değişebildiği bildirilmiştir (Kundu ve ark., 1995; Boyle ve ark., 2013; Katuli ve ark., 2014; Alsop ve ark., 2016). Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinin inhibisyon derecesi bir türden diğerine değişebildiği gibi, bu enzimin inhibisyonunda etkide kalma süresi, derişim ve toksik maddenin çeşidi de önemli bir rol oynamaktadır (Poopal ve ark., 2013).

Bu çalışmada hem CuO NP'lerin hemde CuSO_4 'ün etkisinde Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinin karaciğer, solungaç, barsak ve kas dokularında derişim ve etkide kalma sürelerine bağlı olarak

değişim göstermiştir. CuO NP'lerin etkisinde Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi karaciğer, barsak, solungaç ve kas dokusu tüm derişimlerde ve etkide kalınan sürelerde azaldığı belirlenmiştir. CuSO_4 'ün etkisinde çalışılan tüm dokularda denenen tüm derişim ve sürelerde Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinin azalma gösterdiği saptanmıştır.

Cu ve Cu NP'leri balıkların farklı dokularında Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinde artış veya azalmalara neden olduğu bir çok araştırmacı tarafından yapılan birçok çalışmada belirtilmiştir (Quabius ve ark., 1988; Wu ve ark., 2008; Grosell ve ark., 2012; Shaw ve ark., 2012; Tellis ve ark., 2012; Boyle ve ark., 2013).

Solungaç ve bağırsak, metallerin alınımı ve diğer organlara taşınmasında görev yapan önemli organlardır. Solungaç ve bağırsaklar osmoregülasyondaki hayati rolünden dolayı çok önemli organlardır. Solungaç ATP azlar osmoregülasyon, asit-baz regülasyonu ve balıkların solumu ile yakından ilişkilidir (Parvez ve ark., 2006). Bu çalışmada hem CuO NP'lerin hemde CuSO_4 'ün etkisinde denenen tüm derişimlerinde solungaç ve barsak Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinin kontrol gurubuna göre azaldığı saptanmıştır. Solungaç dokusundaki bu azalma 21. günde CuO NP'lerin ve 7. günde CuSO_4 'ün etkisinde deriş artışına paralel olarak daha fazla olmuştur.

Cu'nun etkisine bırakılan tilapia (*O. mossambicus*) ile yapılan çalışmada, solungaç Na^+ , K^+ -ATPaz spesifik aktivitesinin süreye bağlı bir azalma gösterdiği belirtilmiştir (Quabius ve ark., 1998). Araştırmacılar solungaç Na^+ , K^+ -ATPaz'ın Cu için bir primer hedef olduğu ve Cu'nun Na^+ , K^+ -ATPaz'ın spesifik bloke edicisi olduğunu belirtmişlerdir. CuSO_4 ve Cu-NP'lere maruz bırakılan *O. mykiss* de CuSO_4 solungaç Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinde inhibisyona neden olmuştur (Al-Bairuty ve ark., 2016). Pb'nin etkisinde *O. mykiss* de bağırsak Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesini inhibe olduğu bildirilmiştir. (Alsop ve ark., 2016). Cu-NP'lere etkisine bırakılan *O. mykiss* de, solungaç, bağırsakta ve beyinde Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi azalmıştır (Shaw ve ark., 2012). Griffitt ve ark. (2007), Cu-NP'lere maruz kalan zebra balığında(*Danio rerio*) solungaç Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir. Bakırın etkisinde *Piaractus mesopotamicus*'da solungaç Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinin inhibisyonun, metalin enzimin aktif bölgesine bağlanma kapasitesine bağlı olabileceği ve solungaç Na^+ , K^+ -ATPazın, bakır maruziyetinin etkili biyobelirteci olduğu belirtilmiştir (Sampaio ve ark., 2012).

Cr'nin etkisine bırakılan *Periophthalmus dipes* de solungaç, böbrek ve barsak dokusunda Na^+ , K^+ -ATP az inhibisyonu gözlenmiştir. Bu inhibisyon doza ve süreye bağlı bir eğilim göstermiştir. Solungaçlardaki Na^+ , K^+ -ATPaz inhibisyonu muhtemelen Na^+ , K^+ pompasını bozarak konsantrasyon gradyanı boyunca Na^+ 'nın kontrol edilemez bir şekilde hücreye girmesine neden olmuştur (Thaker ve ark., 1996). Zn etkisine bırakılan, gümüş kedi balığının (*Rhamdia quelen*) solungaçlarında ve bağırsaklarında Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi azalmıştır. Bu dokular, metallerle etkileşime giren ilk hedef organlardır ve osmoregülasyonda kilit rollere de sahiptirler. Enzim aktivitesindeki azalma, enzim molekülünde -SH gruplarının metallere yüksek afinitesi ile de ilişkilendirilebilir (Loro ve ark., 2014). TiO_2 NP'nin 0.5 ve 1.0 mg/L derişimlerine 14 gün maruz

kalınan gökkuşağı alabalığında solungaç Na^+ , K^+ -ATPazda belirgin bir azalma gözlenmiştir (Federici ve ark., 2007). Yetişkin zebra (*D. rerio*) balığında sürenin başlangıcında Ag NP'lerin solungaç Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesini inhibe ettiği belirtilmiştir (Katuli ve ark., 2014). Hg'nin akut derişimlerine bırakılan *C. mrigala*'da solungaç Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinin inhibisyonu, inorganik cıvanın doğrudan ATPaz fonksiyonu üzerindeki toksisitesinden kaynaklanmış olabilir. Hg'nin etkisine bağlı olarak enzim aktivitesinin değişmesi, metalin sülfidril gruplarına bağlanarak konformasyonel değişikliklere ve substrat bağlanmasına engel olmasından kaynaklanabilir (Poopal ve ark., 2013). Fe_2O_3 NP'lerin etkisinde *Labeo rohita* balığının solungaçlarında Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinin inhibisyonu, demir oksit nano partiküllerinin birikmesi nedeniyle membranın fiziksel özelliklerinde veya membranın lipid içeriğinde bir değişiklikten kaynaklanabilir. (Remya ve ark., 2015). Osmoregülasyon ve iyonik bozulmaya karşı duyarlı bir biyobelirteç olan solungaç Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi (Kroglund ve ark. 2007), *Rutilus kutum* 'da Ag NP nin etkisiyle önemli ölçüde inhibe edildiği ve 168 saatlik maruziyetten sonra en düşük düzeye ulaştığı belirtilmiştir. Ag muhtemelen solungaç Na^+ , K^+ -ATPaz üzerindeki Mg^{++} bağlanma yerine bağlanır ve adenosin 5'-trifosfat (ATP) hidrolizinin engellemesi yoluyla Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesini inhibe eder ve Na^+ ve Cl^- nin aktif alımını azaltır (Wood ve ark., 1999). *Anguilla anguilla* 'da kadmiyumunun bağırsak ve solungaç Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitelerini azalttığı belirlenmiştir. Derişim artışına bağlı olarak bu azalmanın daha fazla olduğu saptanmıştır (Lionetto ve ark., 1998). Bu araştırmada solungaç ve barsak Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesindeki azalma bakırın protein alt birimlerindeki tiol gruplarına bağlanabilmesi ve membranın fiziko-kimyasal özelliklerini değiştirmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Karaciğer, balıklarda sudaki metallere maruz kaldığında en yüksek alım oranına sahip ve oksidatif stresin belirlenmesinde çok çalışılan bir organdır. Bu nedenle, hem CuO NP'lerin hemde CuSO_4 'ün karaciğer Na^+ , K^+ -ATPaz üzerindeki belirgin etkileri bulunması olasıdır. Bu çalışmada CuO NP ve CuSO_4 'ün etkisinde karaciğer Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinin kontrol gurubuna göre azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır. CuO NP ve CuSO_4 'ün etkisinde kas dokusu Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi denenen tüm süre ve derişimlerde azaldığı saptanmıştır. Her iki sürede CuO NP'ın etkisinde kas dokusundaki azalmanın derişim artışına bağlı olarak daha fazla olduğu saptanmıştır.

ZnO NP etkisine bırakılan *C. carpio* 'da nano (30 nm) ve büyük ZnO (2000 nm) partiküllerin karaciğerde Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesini inhibe ettiği bildirilmiştir (Hao ve ark., 2013). Cr'un etkisine bırakılan *Boleophthalmus dentatus* 'da genel olarak beyin ve kas dokusunda doz ve süreye bağlı önemli bir Na^+ , K^+ -ATPaz inhibisyonu gözlenmiştir (Kundu ve ark., 1995). Araştırmacılar, Na^+ , K^+ -ATPaz'ın inhibisyonun, Cr ile oksit ve sülfidril grupları arasındaki bağ oluşumundan kaynaklanabildiğini ve bu da iyon taşınımında bir bozulmaya yol açabileceğini bildirmişlerdir. Kromun etkisine bırakılan *Salmo gairdneri* 'de karaciğer ve böbrek dokularında Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinde azalmanın meydana geldiği belirtilmiştir (Kuhnert ve ark., 1976). Pb'nin farklı

derişimlerin etkisine 21 gün süreyle bırakılan *O. niloticus*'da kas dokusu Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinin bir azalma gösterdiği belirtilmiştir (Kötemen, 2013). David ve ark. (2014), deltametrin letal ve subletal konsantrasyonlarına etkisine bıraktıkları *Cirrhinus mrigala* tatlı su balıklarında karaciğer ve kas dokularında Na^+ , K^+ -ATPaz enzim aktivitelerini önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir. Endüstri atıklarının etkisine bırakılan *Periophthalmus dips*'de karaciğer, beyin ve kas dokularında Na^+ , K^+ -ATP az enziminin genel bir inhibisyon gösterdiği saptanmıştır. Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesinin inhibisyonu, Na^+ , K^+ pompasını engelleyip iyon dağılımını bozulmasına neden olduğu belirtilmiştir (Chhaya ve ark., 1997). Bu araştırmada karaciğer ve kas dokusu Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesindeki azalma CuO NP ve CuSO_4 'ün doğrudan ATP az fonksiyonu üzerindeki toksik etkisinden, -SH gruplarına yüksek afinitesinden ve dokuda hasar oluşturmaktan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada elde edilen veriler, Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitelerinin metal cinsine, etkide kalma süresine, doku tipi ve ortam derişimine bağlı olarak önemli oranda değiştiğini göstermiştir. Balıklarda CuSO_4 'nin Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesine etkisinin CuO NP 'ya oranla genelde daha fazla olduğu gözlenmiştir. Metallerin enzim aktivitesini en çok etkilediği dokuya dair bir karşılaştırma yapılacak olunursa sıralamanın karaciğer>bağırsak> solungaç>kas şeklinde olduğu görülmektedir. Tüm dokularda Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesi her iki metal etkisinde de azalış göstermiştir. Bununla birlikte metal etkilerinin enzim aktivitesine etkilerine bakıldığında; CuO NP'ye oranla CuSO_4 etkisinde Na^+ , K^+ -ATPaz aktivitesindeki değişiklik daha fazla olmuştur.

Sonuç olarak, hem solungaç hem de barsak dokusu osmoregülasyon mekanizmalar için önemlidir ve su kaynaklı metallerin toksik etkisi için hedef bölgelerdir. Bu nedenle, metal etkilerine karşı en düşük konsantrasyonda ve en kısa sürede bile yüksek hassasiyet gösteren ATP az enziminin bir biyoindikatör olarak kullanılması ekotoksikolojik alanda büyük önem kazanmıştır.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ağır 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 ortamdaki alma ve biriktirme eğilimindedir. Ağır metaller, su kolonunda ve sedimentlerde görülen ve birçok organizmanın dokularında biriken dünya çapındaki en yaygın kirletici sınıflarından biri olarak bilinir. Ağır metaller, toksisiteleri, biyolojik olarak parçalanabilmelerinin zor olması ve organizmalarda birikme eğilimleri nedeniyle su ortamının ciddi kirletici maddeleri olarak kabul edilirler. Su organizmalar, ağır metallerin yüksek derişimlerine uzun süre maruz kalma ile fizyolojik tepki ve davranış değişiklikleri gösterirler. Su ekosistemlerinin kirlenmesine neden olan ağır metallerin yaygın kullanımı, çevre için büyük bir tehdit oluşturmaktadır.

Bakır doğada en çok bulunan geçiş metallerinden biridir ve metabolik fonksiyonlar için organizmalar tarafından küçük dozlarda gerekli olan önemli bir eser metaldir, ancak vücuda alınan konsantrasyonu fizyolojik/biyokimyasal detoksifikasyon kapasitesini aşması durumunda potansiyel olarak toksik olmaya başlar. Bakır (Cu), hücrel metabolizmada önemli bir rol oynamaktadır. Cu, hemoglobin sentezi, kemik oluşumu, sinir sisteminde miyelin bakımı ve temel enzimlerin (sitokrom oksidaz, dopamin hidroksilaz feroksidaz ve tirozinaz gibi) birincil bir bileşeni olarak çok sayıda biyolojik proseslerde önemli bir rol oynamaktadır. Yüksek düzeyde termal ve elektriksel iletkenliği olması nedeniyle metal oksit nanopartikülleri arasında CuONP en yaygın kullanılan nanopartiküllerden biridir. Bakır oksit nanopartikülleri (nano CuO) antibakteriyel, antiviral ve antifungal özelliklere sahip olması nedeniyle yaygın olarak antimikrobiyal ilaçlarda kullanılmakta ayrıca endüstride iletken filmlerde, yağlayıcı maddelerde ve elektronik cihazlarda kullanılmaktadır. 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

Bu çalışmada *Oreochromis niloticus*'un solungaç, karaciğer, barsak ve kas dokularında bakır nanopartiküllerinin ve bakır sülfatın farklı derişimlerinin iyon düzeyleri (Na^+ , K^+ , Ca^{+2} ve Mg^{+2}) ve Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi üzerine etkilerini inceleyen bir çalışmadır.

CuO NP ve CuSO_4 etkisinde karaciğer, bağırsak, solungaç ve kas dokularında Cu birikimi tüm derişimlerde kontrole oranla artış göstermiştir. Denenen tüm derişim ve sürelerde CuO NP ve CuSO_4 etkisinde de bakır birikimi en fazla karaciğerde olmuş bunu sırasıyla bağırsak, solungaç ve kas dokusu izlemiştir.

CuO NP ve CuSO_4 'ın karaciğer, solungaç ve kas dokularındaki birikimleri kıyaslandığında, denenen her iki derişim ve etki süresinde de CuO NP'ün etkisinde kalan balıkların karaciğer, solungaç ve kas dokularındaki bakır birikimi CuSO_4 'ün etkisinde kalan balıkların karaciğer, solungaç ve kas dokularındaki bakır birikimine oranla daha fazla olmuştur. Yüksek derişimde her iki

etki süresinde CuO NP etkisinde kalan balıkların bağırsaklarındaki bakır birikimi CuSO₄'ün etkisinde kalan balıklardaki bakır birikimine oranla daha fazla olmuştur. Balıkların dokularında CuO NP ve CuSO₄'ün yüksek düzeyde birikimi organizmalarda bu metal forumlarının birikebileceğini göstermektedir.

CuO NP ve CuSO₄ etkisinde denenen her iki ortam derişiminde 21 günlük süre sonunda karaciğer, bağırsak, solungaç ve kas dokularında sodyum düzeyi kontrole oranla azalmıştır. 7 gün süreyle CuSO₄ ve CuO NP etkisine bırakılan *O. niloticus* 'da denenen her iki derişimde de karaciğer, barsak, solungaç ve kas dokularında potasyum düzeyi kontrole oranla azalma göstermiştir. 21 gün süreyle CuSO₄ ve CuO NP etkisine bırakılan balıklarda karaciğerde 1.0 mg/L ortam derişiminde ve solungaç dokusunda her iki ortam derişiminde kalsiyum düzeyi kontrole oranla azalırken, bağırsak ve kas dokularında kalsiyum düzeyinin kontrole oranla arttığı belirlenmiştir. 21 gün süreyle CuSO₄ ve CuO NP etkisine bırakılan *O. niloticus* 'da düşük ortam derişimde karaciğer, bağırsak ve solungaç dokularında magnezyum düzeyleri kontrole göre azalırken, kas dokusunda ise CuSO₄ etkisinde kontrole oranla herhangi bir değişim göstermemiş, CuO NP etkisinde ise kontrole oranla arttığı belirlenmiştir.

Karaciğer, barsak ve kas dokularında CuO NP ve CuSO₄'ün etkisindeki Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesi 7 ve 21 günlük etki süresinde tüm derişimlerde kontrole oranla azalış göstermiştir. Solungaç dokusunda CuO NP'in etkisindeki Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesi 21 günlük etki süresinde ise tüm derişimlerde kontrole göre azaldığı saptanmıştır. CuSO₄'ün etkisindeki Na⁺/K⁺- ATP az aktivitesi denenen tüm süre ve derişimlerde kontrole göre azaldığı saptanmıştır.

CuO NP ve CuSO₄ gibi metaller organizmalarda moleküler düzeyde toksik etki göstermeleri ve birikebilmeleri nedeniyle bunların dikkatli kullanılmaları gerekmektedir çünkü bu metaller, insanlar tarafından protein kaynağı olarak kullanılan balıklar ve diğer su organizmaları üzerinde ciddi risklerden sorumlu kimyasallardır.

Endüstride son yıllarda giderek daha fazla kullanılan nanopartiküllerin su ortamlarına bırakılmaları sonucu organizmalar üzerine etkileri ve dokuda birikimleri üzerine yapılan çalışmalarda bu nanopartiküllerin metallerin diğer formlarına oranla birikimleri ve moleküler düzeyde toksik etkileri farklılıklar göstermektedir. Ülkemizde konu ile ilgili çalışmalar çok az olduğundan nanopartikül birikimi ve moleküler düzeyde etkilerinin araştırılması ve metallerin diğer formlarına göre farklılık gösterip göstermediğinin belirlenmesi önem taşımaktadır. Çalışmamızın sonuçları endüstriyel ve tarımsal faaliyetlerde kullanılan metallerin ve nanopartiküllerin sucul ekosistemlerdeki etkilerinin boyutları ortaya çıkarılmış olacaktır

Bu araştırmanın sonuçları risk belirlenmesinde CuO NP ve CuSO₄ 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., Badran, S.R., Marie, M.S., 2016. Toxicity evaluation of copper oxide bulk and nanoparticles in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, using hematological, bioaccumulation and histological biomarkers. *Fish Physiol Biochem* 42:1225–1236.
- Ahern M.D., Morris, S. (1998) Accumulation of lead and its effects on Na balance in the freshwater crayfish *Cherax destructor*. *J Exp Zool* 281:270–279.
- 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 (2016) 188–198.
- Alsop, D., Wood, C.M., 2011. Metal uptake and acute toxicity in zebrafish: common mechanisms across multiple metals. *Aquat. Toxicol.* 105 (3–4):385–393.
- Alsop, D., Tania Y.-T. Ng, Chowdhury, M.J., Wood, C.M. 2016. Interactions of waterborne and dietborne Pb in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: Bioaccumulation, physiological responses, and chronic toxicity. *Aquatic Toxicology* 177, 343–354.
- Arellano, J.M., Blasco, J., Ortiz, J.B., Capeta-Da Silva, D., Navarro, A., Sanchez-Del Pino, M.J., Sarasquete, C., (2000). Accumulation and histopathological effects of copper in gills and liver of Senegales Sole, *Solea senegalensis* and Toad Fish, *Halobatrachus didactylus*. *Ecotoxicol. Environ. Restoration* 3, 22–28.
- Arora, S., Rajwade, J.M., Paknika, K.M., (2011). Nanotoxicology and in vitro studies: the need of the hour. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 258, 151–165.
- Aschberger, K., Micheletti, C., Sokull-Klüttgen, B., Christensen, F.M., (2011). Analysis of currently available data for characterising the risk of engineered nano materials to the environment and human health lessons learned from four case studies. *Environ. Int.* 37(6), 1143–1156.
- Astorga-Espana, M. S., Pena-mendez, E. M. and Montelongo F. J., 1999. Application of Principal Component Analysis to The Study of Major Cations and Trace Metals in Fish From Tenerife (Canary Islands). *Chem. and Intell. Lab., Sys.*, 49: 173-178.
- Atkinson, A., Gatemby, A.O., and Lowe, A.G. 1973. The Determination of Inorganic Orthophosphate in Biological Systems. *Biochimica Et Biophysica Acta.* 320, 195-204.
- Bai W, Tian W, Zhang Z, He X, Ma Y, Liu N, Chai Z. (2010). Effects of copper nanoparticles on the development of zebrafish embryos. *J. Nanosci. Nanotech.* 10: 8670–8676.
- Baramaki, R., Ebrahimpour, M., Mansouri, B., Rezaei, M.R, Babaei, H. 2012. Contamination of metals in tissues of *Ctenopharyngodon idella* and *Perca fluviatilis*, from Anzali Wetland, Iran. *Bull Environ Contamin Toxicol* 89:831–835.

- Baskin, S.I., Kuhar, K.P., Uricchio, F.J. and Harper, G.R. 1981. The effect of age on five ions of the kidney in the Fischer 344 rat. *Repro. Nutr. Dev.* 21: 689-694.
- Battaglini, P., G. Andreozzi, R. Antonucci, N. Arcamone, P. De Girolamo, L. Ferrara and G. Gargiulo (1993) The effects of cadmium on the gills of the goldfish *Carassius auratus* L.: metal uptake and histochemical changes. *Comp. Biochem. Physiol.* 104C, 239-247.
- Begum, G., 2011. Organ-specific ATPase and phosphorylase enzyme activities in a food fish exposed to a carbamate insecticide and recovery response. *Fish Physiol. Biochem.*, 37(1): 61-69.
- Bielmyer, G. K., Tomasso, J., Klaine, S. J. 2006. Physiological responses of hybrid striped bass to aqueous copper in freshwater and saltwater. *Arch Environ Contam Toxicol* 50:531–538.
- Binelli, A., Parolini, M., Cogni, D., Pedriali, A., Provini, A., 2009. A multi-biomarker assessment of the impact of the antibacterial trimethoprim on the non-target organism zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). *Comp. Biochem. Physiol. C* 150, 329–336.
- Bijvelds, M.J., Velden, J.A.V.D., Kolar, Z.I., Flik, G., 1998. Magnesium transport in freshwater teleosts. *J. Exp. Biol.* 201, 1981-1990.
- Birceanu, O., Chowdhury, M.J., Gillis, P.L., McGeer, J.C., Wood, C.M., Wilkie, M.P., 2008. Modes of metal toxicity and impaired branchial ionoregulation in rainbow trout exposed to mixtures of Pb and Cd in soft water. *Aquat. Toxicol.* 89, 222–231.
- Bjerregaard, P. and Vislie, T., 1986. Effect of Copper on Ion-And Osmoregulation in the Shore Crab *Carcinus maenas* *Marine Biology*. 91: 69-76.
- 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.
- Borm, P., Klaessig, F.C., Landry, T.D., Moudgil, B., Pauluhn, J., Thomas, K. (2006). Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, part V: role of dissolution in biological fate and effects of nanoscale particles. *Toxicol. Sci.* 90, 23–32.
- Boyle, R. T., Oliveira, L. F., Bianchini, A., Souza, M. M. 2013. The Effects of Copper on Na⁺/K⁺-ATPase and Aquaporin Expression in Two Euryhaline Invertebrates. *Bull Environ Contam Toxicol* 90:387–390.
- Braz-Mota, S., Campos, D. F., Tyson J. MacCormack, T. J., Rafael M. Duarte, R. M., Val, A. J., 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.
- Burkepile, D.E., Moore, M.t., Holland, M.M. (2010). Susceptibility of five nontarget organisms to aqueous diazinon exposure. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 64, 114-121.

- Campbell, H.A., Handy, R.D., Nimmo, M., (1999). Copper uptake kinetics across the gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) measured using an improved isolated perfused head technique. *Aquat. Toxicol.* 46, 177–190.
- 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* 42:376-382.
- Chhaya, J., Thaker, J., Mittal, R., nuzhat, S., Mansuri, A.P. and Kundu, R. 1997. Influence of Textile Dyeing and Printing Industry Effluent on ATPases in Liver, Brain and Muscle of Mudskipper, *Periophthalmus dips*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 58: 793-800.
- Chen, D., Zhang, D., Yu, J. Y., Chan, K. M. 2011. Effects of Cu₂O nanoparticle and CuCl₂ on zebrafish larvae and a liver cell-line. *Aquatic Toxicology* 105 (2011) 344–354.
- Cheon, J., Lee, J., Kim, J., (2012). Inkjet printing using copper nanoparticles synthesized by electrolysis. *Thin Solid Films* 520 (7):2639–2643.
- Chen, T.H., Lin, C.C., Meng, P.J., 2014. Zinc oxide nanoparticles alter hatching and larval locomotor activity in zebrafish (*Daniorerio*). *J. Hazard Mat.* 277, 134–140.
- Chowdhury, M.J., Girgis, M., Wood, C.M., 2016. Revisiting the mechanisms of copper toxicity to rainbow trout: time course, influence of calcium, unidirectional Na⁺ fluxes, and branchial Na⁺, K⁺ ATPase and V-type H⁺ ATPase activities. *Aquat. Toxicol.* 177:51–62.
- Cleveland, L., E.E. Little, C.G. Ingersoll. R.H. Wiedmeyer and J.B. Hunn (1991). Sensitivity of brook trout to low pH, low calcium, and elevated aluminum concentrations during laboratory pulse exposures. *Aquat. Toxicol.* 19, 303-318.
- Çoğun, H.Y. 2008. *Oreochromis niloticus* ve *Cyprinus carpio*‘ da bakır ve kurşun birikiminin solungaç, kas, karaciğer, böbrek ve kan dokularındaki iyon dağılımı üzerine etkisi. Doktora Tezi. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü. Biyoloji Anabilim Dalı, 173.
- Cotou, E., Castritsi-Catharios, I. and Moraitou- Apostolopoulou M., 2001. Surfactant- based oil dispersant toxicity to developing nauplii of *Artemia*: effects on ATPase enzymatic system. *Chemosphere.*, 42: 959-964.
- Crane, R.K. 1977. The gradient hypothesis and other models of carrier-mediated active transport. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 78 : 99-159.
- Crémazy, A., Wood, C.M., Smith, D.S., Ferreira, M.S., Johannsson, O.E., Giacomini, M., Val, A.L., 2016. Investigating copper toxicity in the tropical fish cardinal tetra (*Paracheirodon axelrodi*) in natural Amazonian waters: measurements, modeling, and reality. *Aquat. Toxicol.* 180:353–363.
- Croke, S. J. and McDonald, D. G., 2002. The Further Development of Ionoregulatory Measures as Biomarkers of Sensitivity and Effect in Fish Species. *Environ. Toxicol. Chem.*, 21 (8): 1683-1691

- Cummings, B.S., Kinsey, G.R., Bolchoz, L.J., Schnellmann, R.G., (2004). Identification of caspase-independent apoptosis in epithelial and cancer cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 310,126–134.
- Dalela, R.C., Bhatnagar, M.C., Tyagi, A.K., Verma, S.R. 1978. Adenosine triphosphatase activity in a few tissues of a freshwater teleost, *Channa gaucha* following in vivo exposure to endosulfan. *Toxicology*. 11:361-368.
- Dang, Z., Lock, R.A.C., Flik, G., Wendelaar Bonga, S., 2000. Na/K-ATPase immunoreactivity in brachial chloride of *Oreochromis mossambicus* exposed to copper. *J. Exp. Biol.* 20,370–387.
- David, M., Sangeetha, J., Harish, E.R., Shrinivas, J. and Naik, V.R. (2014). Deltamethrin induced alteration in Na^+ - K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} associated ATPases activity in the freshwater fish *Cirrhinus mrigala*. *International Journal of Pure and Applied Zoology*. 2, (2): 175-181.
- De Boeck G, Vlaeminck A, Balm PH, Lock RA, De Wachter B, Blust R (2001). Morphological and metabolic changes in common carp, *Cyprinus carpio*, during short-term copper exposure: interactions between Cu^{2+} and plasma cortisol elevation. *Environ Toxicol Chem* 20:374–381.
- De Boeck, G., Meeus, W., De Coen, W., Blust, R., 2004. Tissue-specific bioaccumulation 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.
- De la Torre FR, Salibián A, Ferrari L 2000. Biomarkers assessment in juvenile *Cyprinus carpio* exposed to waterborne cadmium. *Environ Pollut* 109:277–282.
- De la Torre FR, Salibián A, Ferrari L. 2007. Assessment of the pollution impact on biomarkers of effect of a freshwater fish. *Chemosphere*, 68, 1582-90.
- Dethloff, G. M., Schlenk, D., Khan, S. And Bailey, H. C. 1999. The effects of copper on blood and biochemical parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 36; 415-423.
- Dietrich, D. and Schlatter, C., 1989. Aluminum Toxicity to Rainbow Trout at Low pH. *Aquatic Toxicology*, 15: 197-212.
- Di Giulio, R.T., Benson, W.H., Sanders, B.M., Van Held, P.A., 1995. Biochemical Mechanisms: Metabolism, Adaptation and Toxicity. In: Rand, G.M. (Ed). *Fundamentals of Aquatic Toxicology. Effects, Environmental Fate, and Risk Assessment*. Taylor and Francis, 523-562.
- Di Giulio, R.T., Hinton, D. E 2008. *The toxicology of fishes*. CRC Press/ Taylor and Francis Group, Boca Raton, pp 1096.
- Erdem, C., Kargın, F., 1992. *Cyprinus carpio* ile *Tilapia nilotica*'nın Karaciğer, Dalak, Barsak, Solungaç ve Kas Dokularındaki Bakır Birikiminin Karşılaştırmalı Olarak Araştırılması. *Biyokimya Dergisi*, 7(1):13-27.

- Evans DH (1987) The fish gill: site of action and model for toxic effects of environmental pollutants. *Environ Health Perspect* 71:47–58.
- Eyckmans, M., Tudorache, C., Darras, V.M., Blust, R., De Boeck, G., 2010. Hormonal and ion regulatory response in three freshwater fish species following waterborne copper exposure. *Comp. Biochem. Physiol. C* 152, 270–278.
- Eyckmans, M., Celis, N., Horemans, N., Blust, R., De Boeck, G., 2011. Exposure to waterborne copper reveals differences in oxidative stress response in three freshwater species. *Aquat. Toxicol.* 103, 112–120.
- Fahmy, B., & Cormier, S. A. (2009). Copper oxide nanoparticles induce oxidative stress and cytotoxicity in airway epithelial cells. *Toxicology In Vitro*, 23, 1365–1371.
- Farkas, J., Christian, P., Gallego-Urrea, J.A., Roos, N., Hassellöv, M., Tollefsen, K.E. 2011. Thomas, K.V., 2011. Uptake and effects of manufactured silver nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gill cells. *Aquat. Toxicol.* 101, 117–125.
- Farmen, E., Mikkelsen, H., Evensen, Einset, J., Heier, L., Rosseland, B., Salbu, B., Tollefsen, K., Oughton, D., 2012. Acute and sub-lethal effects in juvenile Atlantic salmon exposed to low $\mu\text{g/L}$ concentrations of Ag nanoparticles. *Aquat. Toxicol.* 108, 78–84.
- Farre, M., Gajda-Schrantz, 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.
- Fernandes, C., Fontainhas-Fernandes, A., Rocha, E., Salgado, M.A., 2008. Monitoring pollution in Esmoriz–Paramos lagoon, Portugal: liver histological and biochemical effects in *Liza saliens*. *Environ. Monit. Assess.* 145, 315–322.
- Flik, G., J.H. van Rijs and S.E. Wendelaar Bonga (1985) Evidence for high-affinity Ca^{2+} -ATPase activity and ATPase driven Ca-transport in membrane preparations of the gill epithelium of the cichlid fish *Oreochromis mossambicus*. *J. Exp. Biol.* 119, 335–347.
- Firat O, Kargin F. (2010). Individual and combined effects of heavy metals on serum biochemistry of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Arch Environ Contam Toxicol*; 58:151–157.
- Firat Ö., Çoğun H. Y., T. A. Yüzereroğlu, G. Gök, Ö. Firat, F. Kargin, Y. Kötemen 2011. A comparative study on the effects of a pesticide (cypermethrin) and two metals (copper, lead) to serum biochemistry of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish Physiology and Biochemistry*. 37: 657
- Forstner N, Wittman GTW. (1983). Heavy metals in aquatic organisms. In: Metal pollution in the aquatic environment. 2nd ed. Berlin, Germany: Springer-Verlag; 1983. pp. 271–323.

- Gabryelak, T., Filipiak, A., Brichon, G., 2000. Effects of zinc on lipids of erythrocytes from carp (*Cyprinus carpio* L.) acclimated to different temperatures, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 127, 335-343.
- Gaiser, B.K., Fernandes, T.F., Jepson, M.A., Lead, J.R., Tyler, C.R., Baalousha, M., Biswas, A., Britton, G.J., Cole, P.A., Johnston, B.D., Ju-Nam, Y., Rosenkranz, P., Scown, T.M., Stone, V. 2012. Interspecies comparisons on the uptake and toxicity of silver and cerium dioxide nanoparticles. *Environ. Toxicol. Chem.* 31 (1), 144–154.
- Garcia-Santos, S., Fontainhas-Fernandes, A., and Wilson, J.M., 2006. Cadmium Tolerance in the Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Following Acute Exposure: Assessment of Some Ionoregulatory Parameters. *Environmental Toxicology*, 21: 33-46.
- Gharaei, A., Ghaffari, M., Keyvanshokoo, S., Akrami, R. 2011. Changes in metabolic enzymes, cortisol and glucose concentrations of Beluga (*Huso huso*) exposed to dietary methylmercury. *Fish Physiol. Biochem.* 37, 485–493.
- Gilles R (1979) Intracellular organic osmotic effectors. In: Gilles R (ed) *Mechanisms of osmoregulation in animals*, Wiley Interscience Publications, New York, p 113-153
- Goss, G.G. and Wood, C.M., 1990. Na⁺ and Cl⁻ uptake kinetics, diffusive effluxes and acidic equivalent fluxes across the gills of rainbow trout. I. Responses to environmental hypoxia. *J. Exp. Biol.*, 152: 521-547.
- Griffitt RJ, Weil R, Hyndman KA, Denslow ND, Powers K, Taylor D, Barber SD (2007) Exposure to copper nanoparticles causes gill injury and acute lethality in zebrafish (*Danio rerio*). *Environ Sci Technol* 41:8178–8186.
- Griffitt, R.J., Hyndman, K., Denslow, N.D., Barber, D.S. (2009). Comparison of Molecular and Histological Changes in Zebrafish Gills Exposed to Metallic Nanoparticles. *Toxicological Sciences*, 107(2): 404-415.
- Grosell, M., Boetius, I., Hansen, H.J.M., Rosenkilde, P., (1996). Influence of preexposure to sublethal levels of copper on ⁶⁴Cu uptake and distribution among tissues of the European eel (*Anguilla anguilla*). *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Pharmacology, Toxicology & Endocrinology* 114, 229–235.
- Grosell, M.H., Hogstrand, C., Wood, C.M., 1997. Cu uptake and turnover in both Cu-acclimated and non-acclimated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquat. Toxicol.* 38, 257–276.
- Grosell, M., Hansen, H.J.M., Rosenkilde, P., Hansen, H.J., 1998. Cu uptake, metabolism and elimination in fed and starved European eels (*Anguilla anguilla*) during adaptation to water-borne Cu exposure. *Comp. Biochem. Physiol. C* 120, 295–305.
- Grosell, M., Wood, C.M., (2002). Copper uptake across rainbow trout gills: mechanisms of apical entry. *J. Exp. Biol.* 205, 1179–1188.

- Grosell, M., Nielsen, C., Bianchini, A., 2002. Sodium turnover rate determines sensitivity to acute copper and silver exposure in freshwater animals. *Comp. Biochem. Physiol. C* 133, 287–303.
- Grosell M, Wood CM, Walsh PJ. 2003. Copper homeostasis and toxicity in the elasmobranch *Raja erinacea* and the teleost *Myoxocephalus octodecemspinosus* during exposure to elevated water-borne copper. *Comp Biochem Physiol C* 135:179–190.
- Grosell, M., McDonald, M.D., Walsh, P.J., C.M. Wood, C.M. 2004. Effects of prolonged copper exposure in the marine gulf toadfish (*Opsanus beta*) II: copper accumulation, drinking rate and Na⁺/K⁺-ATPase activity in osmoregulatory tissues. *Aquatic Toxicology* 68 (2004) 263–275
- Grosell M, Gerdes R, Brix KV (2006). Influence of Ca, humic acid and pH on lead accumulation and toxicity in the fathead minnow during prolonged water-borne lead exposure. *Comp Biochem Physiol* 143C:473–483.
- Grosell, M., Farrell, A.P., Wood, C.M., Brauner, C.J., 2012. Copper. Homeostasis and Toxicology of Essential Metals, Fish Physiology. 31A. Academic Press, San Diego, pp. 54–110.
- Gunn, J.M. and Noakes, D.L.G., 1987. Latent Effects of Pulse Exposure to Aluminum and Low pH on Size, Ionic Composition, and Feeding Efficiency of Lake Trout (*Salvelinus namaychus*) Alevins. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 41: 1418-1424.
- Gupta, Y.R., Sellegounder, Kannan, Deepa, D.M.S., Senthilkumaran, B., Basavaraju, Y. (2016). Effect of copper nanoparticles exposure in the physiology of the common carp (*Cyprinus carpio*): Biochemical, histological and proteomic approaches. *Aquaculture and Fisheries* 1, 15-23.
- Handy, R.D., Sims, D.W., Giles, A., Campbell, H.A., Musonda, M.M., 1999. Metabolic trade-off between locomotion and detoxification for maintenance of blood chemistry and growth parameters by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chronic dietary exposure to copper. *Aquat. Toxicol.* 47, 23–41.
- Handy RD, Eddy FB, Baines H 2002. Sodium-dependent copper uptake across epithelia: a review of rationale with experimental evidence from gill and intestine. *Biochim Biophys Acta* 1566:104–115
- Handy, R. D. (2003). Chronic effects of copper exposure versus endocrine toxicity: Two sides of the same toxicological process? *Comparative Biochemistry and Physiology: Molecular & Integrative Physiology*, 135, 25-38.
- Handy, R.D., Owen, R., & Valsami-Jones, E., 2008. The ecotoxicology of nanoparticles and nanomaterials: current status, knowledge gaps, challenges, and future needs. *Ecotoxicology*, 17(5), 315-325.

- Hao, L., Wang, Z., Xing, B., 2009. Effect of Sub-Acute Exposure to TiO₂ Nanoparticles on Oxidative Stress and Histopathological Changes in Juvenile Carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Environmental Science, 21:1459-1466.
- Hao, L. and 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.
- Hassall, M. and J.M. Dangerfield 1990. Densitydependent processes in the population dynamics of *Armadillidium vulgare* (Isopoda: Ooiscidae). J. Anim. Ecol. 59,941.
- Heath, A. G., 1987. Water Pollution and Fish Physiology. CRC Press., 24 pp. Florida USA.
- Hedayati, A., Hoseini, S.M., Hoseinifar, S.H. 2016. Response of plasma copper, ceruloplasmin, iron and ions in carp, *Cyprinus carpio* to waterborne copper ion and nanoparticle exposure Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 179, 87–93.
- Hilmy, A. M., Shabana, M. B. And Daabees, A. Y. 1985. Bioaccumulation of Cadmium: Toxicity in *Mugil cephalus*. Comparative Biochemistry and Physiology. 81C(1), 139-143.
- Hogstrand C, Reid SD, Wood CM (1995) Ca²⁺ versus Zn²⁺ Transport in the gills of freshwater rainbow trout and the cost of adaptation to waterborne Zn²⁺. J Environ Biol 198:337–338.
- Hongstrand, C., Ferguson, E.A., Galves, F., Shaw , J.R., Webb, N.A. and Wood , C.M., 1999. Physiology of Acute Silver Toxicity in the Starry Flounder (*Platichthys stellatus*) in Seawater. J.Comp.Physiol., B.169: 461-473.
- Hollis, L., Hogstrand, C.,Wood, C.M., 2001. Tissue-Specific Cadmium Accumulation, Methallothionein Induction, and Tissue Zinc and Copper Levels During Chronic Sublethal Cd Exposure in Juvenil Rainbow Trout Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 41:468-474.
- Hoyle, I., Shaw, B.J., and Handy, R.D., 2007. Dietary Copper Exposure in the African Walking Catfish, *Clarias gariepinus*: Transient Osmoregulatory Disturbances and Oxidative Stress. Aquatic Toxicology, 83: 62–72.
- Hwang P.P., Lee T.H. 2007. New insights into fish ion regulation and mitochondrionrich cells. Comp Biochem Physiol A;148:479–97.
- Isani, G., Falcioni, M.L., Barucca, G., Sekar, D., Andreani, G., Carpenè, E., Falcioni, G. 2013. Comparative toxicity of CuO nanoparticles and CuSO₄ in rainbow trout. Ecotoxicology and Environmental Safety. 97, 40–46.
- Iverson, L.L., and Kelly. J.S. 1975. Uptake and metabolism of γ -aminobutyric acid by neurons and neuroglial cells. Biochem. Pharmacol. 24 : 93-938.

- Johari, S., Kalbassi, M., Soltani, M., Yu, I., 2013. Toxicity comparison of colloidal silver nanoparticles in various life stages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iran. J. Fish. Sci. 12, 76–95.
- Joo, H.s., Kalbassi, M.r., Johari, S.A. 2018. Hematological and histopathological effects of silver nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) how about increase of salinity. Environmental Science and Pollution Research 25:15449–15461.
- Jorgensen, P.L., Hakansson, K.O. and Karlsh, S.J.D., 2003. Structure and mechanism of Na⁺/K⁺–ATPase: functional sites and their interactions, *Annu. Rev. Physiol.*, 65: 817-849.
- Kaegi, R., Ulrich, A., Sinnet, B., Vonbank, R., Wichser, A., Zuleeg, S., Simmler, H., Brunner, S., Vonmont, H., Burkhardt, M., Boller, M., (2008). Synthetic TiO₂ nanoparticle emission from exterior facades into the aquatic environment. Environ. Pollut. 156, 233–239.
- Kamunde, C., Grosell, M., Higgs, D., Wood, C.M., 2002. Copper metabolism in actively growing rainbow, trout (*Oncorhynchus mykiss*): interactions between dietary and waterborne copper uptake. J. Exp. Biol. 205, 279–290.
- Kamunde, C.N., Wood, C.M., 2004. Environmental chemistry, physiological homeostasis, toxicology, and environmental regulation of copper: an essential element in freshwater fish. Aust. J. Ecotoxicol. 10, 1–20.
- Karlsson, H.L., Cronholm, P., Gustafsson, J., Moller, L., 2008. Copper Oxide Nanoparticles are Highly Toxic: A Comparison between Metal Oxide Nanoparticles and Carbon Nanotubes. Chemical Research in Toxicology, 21:1726-1732.
- Katuli, K.K., Massarsky, A., Hadadi, A., Pourmehran, Z. 2014. Silver nanoparticles inhibit the gill Na/K-ATPase and erythrocyte AChE activities and induce the stress response in adult zebra fish (*Danio rerio*). Ecotoxicology and Environmental Safety 106, 173–180.
- Kaya, H., Aydın, F., Gürkan, M., Yılmaz, S., Ates, M., Demir, V., Arslan, Z. 2016. A comparative toxicity study between small and large size zinc oxide nanoparticles in tilapia (*Oreochromis niloticus*): Organopathologies, osmoregulatory responses and immunological parameters. Chemosphere 144, 571–582.
- Khabbazi, M., Harsij, M., Hedayati, A.K., Gholipour, H., Gerami, M.H., Ghafari Farsani, H., (2015). Effect of CuO Nanoparticles on Some Hematological Indices of Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss* and Their Potential Toxicity In Vitro, 23:1116-1122.
- 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
- Klaine SJ, Alvarez PJJ, Batley GE, Fernandes TF, Handy RD, Lyon DY, Mahendra S, McLaughlin M, Lead JR (2008) Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability and effects Environ Toxicol Chem 27(9):1825–1851.

- Klaper, R., Crago, J., Barr, J., Arndt, D., Setyowati, K., Chen, J., (2009). Toxicity biomarker Expression in daphnids exposed to manufactured nanoparticles: changes in toxicity with functionalization. *Environ. Pollut.* 157, 1152–1156.
- Klinck J, Dunbar M, Brown S, Nichols J, Winter A, Hughes C. (2005) Influence of water chemistry and natural organic matter on active and passive uptake of inorganic mercury by gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquat Toxicol*; 72:161–75.
- Kone BC, Brenner RM, Gullams SR (1990) Sulfhydryl reactive heavy metals increase cell membrane K and Ca transport in renal proximal tubule. *J Membr Biol* 113:1–12.
- Kötemen, Y. 2013. Kurşun ve Kurşun-Çinko Karışımının Farklı Derişimlerinin Etkisine Bırakılan *Oreochromis niloticus*'da Kurşunun Dokularda Birikimi ve Na⁺, K⁺-ATP az Aktivitesine Etkisi. Yüksek Lisan Tezi. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 60s.
- Kroglund, F., Rosseland, B., Teien, H.-C., Salbu, B., Kristensen, T., & Finstad, B. 2007. Water quality limits for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) exposed to short term reductions in pH and increased aluminum simulating episodes. *Hydrology and Earth System Sciences*, 12, 491–507.
- Kuhnert, P.M., Kuhnert, B.R. and Stokes, R.M. 1976. The Effect of In Vivo Chromium Exposure on Na/K- and Mg-ATPase Activity in Several Tissues of the Rainbow Trout (*Salmo Gairdneri*). *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology*, 15, 4, 383-390.
- Kundu, R., Lakshmi, R., Mansuri, A.P. 1995. Effects of Cr (VI) on ATPases in the brain and muscle of mudskipper, *Blepharophthalmus dentatus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 55, 723-729.
- 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. *aspian Journal of Environmental Sciences*, 14(2):105-115.
- Lall, S.P., 2002. The Minerals. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition*, third ed. Academic Press, New York, NY, pp. 260–308.
- Lander, L., Reuther, R., (2004). *Metals in society and in the environment: a critical review of current knowledge on fluxes, speciation, bioavailability and risk adverse effects of copper, chromium, nickel and zinc*. Kluwer, Boston.
- Lauren, D.J. and D.G. McDonald (1987) Acclimation to copper by rainbow trout, *Salmo gairdneri*: biochemistry. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44, 105-111.
- Lawrence, A. J., Hemingway, K. L. 2008. *Effects of pollution on fish: molecular effects and population responses*. Wiley, Blackwell, pp 376.
- Li, J., Lock, R.A.C., Klaren, P.H.M., Swarts, H.G.P., Schuurmans Stekhoven, F.M.A.H., Wendelaar Bonga, S.E., Flik, G., 1996. Kinetics of Cu²⁺ inhibition of Na⁺/K⁺-ATPase. *Toxicol. Lett.* 87, 31–38.

- Li J, Quabius ES, Wendelaar Bonga SE, Flik G (1998). Effect of waterborne copper on branchial chloride cells and Na/K ATPase activities in Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Aquat Toxicol* 43:1–11
- Linder, M.C., Wooten, L., Lomeli, N., Shule, R., Cotton, S., Cerveza, P., (1998). Copper transport. *Am. J. Clin. Nutr.* 67, 965S–971.
- Linhua, H. A. O., Zhenyu, W. A. N. G., & Baoshan, X. I. N. G., 2009. Effect of sub-acute exposure to TiO₂ nanoparticles on oxidative stress and histopathological changes in Juvenile Carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Environmental Sciences*, 21(10), 1459-1466.
- Lionetto MG, Maffia M, Cappello MS, Giordano ME, Storelli C, Schettino T. 1998. Effect of cadmium on carbonic anhydrase and Na⁺–K⁺-ATPase in eel, *Anguilla anguilla*, intestine and gills. *Comp Biochem Physiol A* 120:89–91
- Liu, D., Guo, H., Chen, Z., Wang, Y. 2014. Effect of cadmium on the extracellular Na⁺, K⁺, and Ca²⁺ in the gill and small intestine of Goldfish *Carassius auratus*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 37, 672-678.
- Longano, D., Ditaranto, N., Cioffi, N., Di Niso, F., Sibillano, T., Ancona, A., Conte, A., Del Nobile, M.A., Sabbatini, L., Torsi, L., (2012). Analytical characterization of lasergenerated copper nanoparticles for antibacterial composite food packaging. *Anal. Bioanal. Chem.* 403 (4):1179–1186.
- Loro V.L., Nogueira L., Nadella S.R., Wood, C.M. 2014. Zinc bioaccumulation and ionoregulatory impacts in *Fundulus heteroclitus* exposed to sublethal waterborne zinc at different salinities. *Comp Biochem Physiol Part C* 166:96–104
- Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *The Journal of Biochemistry*, 193: 265-277.
- Lu, G.H., Chen, W., Li, Y., 2011. Effects of PAHs on biotransformation enzymatic activities in fish. *Chem. Res. Chin. Univ.* 27, 413–416.
- Lynch, I., Dawson, K.A., Linse, S., 2006. Detecting cryptic epitopes created by nanoparticles *Sci. Signal.* 327.
- 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.
- Martinez CBR, Souza MM.(2002). Acute effects of nitrite on ion regulation in two neotropical fish species. *Comp Biochem Physiol A*;133:151.
- Martine P.D.P. and Arivoli, S., 2008. Biochemical study of freshwater fish *Catla catla* with reference to mercury chloride. *Iran. J. Environ. Health. Sci. Eng.*, 5(2): 109-116.
- Mazon, A.F. and Fernandes, M.N. 1999. Toxicity and Differential Tissue Accumulation of Copper in the Tropical Freshwater Fish, *Prochilodus scrofa* (Prochilodontidae). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* (1999) 63:797—804

- Mayer, F.L., Versteeg, D.J., McKee, M.J., Folmar, L.C., Graney, R.L., McCume, D.C., Rattne, B.A., 1992. Physiological and nonspecific biomarkers. In: Huggett, R.J., Kimerle, R.A., Mehrle, Jr P.M., Bergman H.L., (eds), Biomarkers, biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress, Proceedings of the Eighth Pellston Workshop, Keystone, Colorado, July
- Mazon, A.F., Cerqueira, C.C.C., Fernandes, M.N., 2002. Gill cellular changes induced by copper exposure in the South American tropical freshwater fish *Prochilodus scrofa*. *Environ. Res.* A88, 52– 63.
- McCormick, S.D., 1993. Methods for nonlethal gill biopsy and measurement of Na^+ , K^+ -ATPase activity. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 50, 656–658.
- 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. *Aquat Toxicol* 50:231–243
- McDonald, D.G., Reader J.P. and Dalziel T.R.K. (1989) The combined effects of pH and trace metals on fish ionoregulation. In: Acid Toxicity and Aquatic Animals. Sot. Exp. Biol. Semin. Ser. vol. 3 I, edited by R. Morris, E.W. Taylor and J.A. Brown. Cambridge University Press, pp. 221-242.
- Melegari, S. P., Perreault, F., Costa, R. H., Popovic, R., & Matias, W. G. (2013). Evaluation of toxicity and oxidative stress induced by copper oxide nanoparticles in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Aquatic Toxicology*, 143, 431-440.
- Meyer B. J. (1988) Supplement. In *The Physiological Basis of Medicine*, 4th ed. (Edited by Meyer B. J.), pp. i-xv. Haum Publishing, Pretoria (in Afrikaans).
- Monfared, A.L. and 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.
- Monteiro, S.M., Mancera, J.M., Fontáinhas-Fernandes, A., Sousa, M., 2005. Copper induced alterations of biochemical parameters in the gill and plasma of *Oreochromis niloticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 141, 375 – 383.
- Moore JW, Ramamoorthy S (1984). *Heavy Metals in Natural Waters*. Springer, Berlin, p. 77-79.
- Moorthy, K.S., Kasi Reddy, B., Swami, K.S., and Chetty, C.S. 1984. Changes in respiration and ionic control tissues of freshwater mussel exposed to methyl parathion toxicity. *Toxicol. Lett.* 21, 287-292.
- Nations, S., Wages, M., Canas, J.E., Maul, J., Theodorakis, C., Cobb, G.P., 2011. Acute effects of Fe_2O_3 , TiO_2 , ZnO and CuO nanomaterials on *Xenopus laevis*. *Chemosphere* 83, 1053–1061.
- Nowack, B., Bucheli, T.D., 2007. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environ. Pollut.* 150 (1):5–22.

- Nowrouzi, M., Mansouri B., Hamidian, A.H., Zarei, I., Mansouri, A. 2012. Metal contents in tissues of two fish species from Qeshm Island, Iran. *Bull Environ Contam Toxicol* 89:1004–1008.
- Ohashi, N., Mitamura, H., Ogawa, S., 2009. Development of new L-type calcium channel antagonists: therapeutic potential of flunarizine in preventing electrical remodeling during atrial fibrillation. *Drugs* 69, 21–30.
- 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
- Pandey, S., Parvez, S., Ahmad Ansari, R., Ali, M., Kaur, M., Hayat, F., Ahmad, F., Raisuddin, S., (2008). Effects of exposure to multiple trace metals on biochemical, histological and ultrastructural features of gills of a freshwater fish, *Channa punctata* Bloch. *Chem. Biol. Interact.* 174, 183–192.
- Parvez, S., Sayeed, I., Raisuddin, S. 2006. Decreased gill ATPase activities in the freshwater fish *Channa punctata* (Bloch) exposed to a diluted paper mill effluent. *Ecotox Environ Safe.*; 65, 62–66.
- Pedlar, R. M., Klaverkamp, J. F. (2002) Accumulation and distribution of dietary arsenic in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*). *Aquat Toxicol* 57:153–166.
- Pelgrom S.M.G.J., Lock R.A.C., Balm P.H.M., Wendelaar Bonga S.E. 1995. Integrated physiological response of tilapia, *Oreochromis mossambicus*, to sublethal copper exposure. *Aquat Toxicol* 32:303–320.
- Poopal, R.K., Ramesh, M., Dinesh, B. 2013. Short-term mercury exposure on Na⁺/K⁺-ATPase activity and ionoregulation in gill and brain of an Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 27, 70–75
- Pozzan, T., Rizzuto, R., Volpe, P., Meldolesi, J., 1994. Molecular and cellular physiology of intracellular calcium stores. *Physiol. Rev.* 74, 595–636.
- Pradhan, A., Silva, C. O., Silva, C., Pascoal, C., Cássio, F. 2016. Enzymatic biomarkers can portray nanoCuO-induced oxidative and neuronal stress in freshwater shredders. *Aquatic Toxicology* 180, 227–235.
- Price, E.E., Donahue, M.J., Dickson, K.I. and Rodgers, J.H. (1990). Effects of elevated calcium concentration on Na, K-ATPase activity of two euryhaline species, *Cyprinodon variegatus* and *Mysidopsis bahia*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 44:121–128.
- Priya, K.K., Ramesh, M., Saravanan, M., Ponpandian, N., 2015. Ecological risk assessment of silicon dioxide nanoparticles in a freshwater fish *Labeo rohita*: hematology, ionoregulation and gill Na⁺/K⁺ ATPase activity. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 120, 295–302.
- Pyle, G., Rajotte, J., Couture, P., (2005). Effects of industrial metals on wild fish populations along a metal contamination gradient. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 61, 287–312.

- Quabius, J. Li, E.S., Wendelaar Bonga, S.E., Flik, G., Lock, R.A.C. 1998. Effects of water-borne copper on branchial chloride cells and Na⁺:K⁺-ATPase activities in Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*) Aquatic Toxicology 43 (1998) 1–11
- Rainbow. P.S. (1992). The significance of accumulated heavy metal concentrations in marine organisms. In: Proceedings of Bioaccumulation Workshop. Water Board and Australia Marine Sciences Association Inc.. Sydney. 13 pp.
- Rajkumar, K.S., Sivagaami, P., Ramkumar, A., Murugadas, A., Srinivasan, V., Arun, S., Kuma, K.S., Thirumurugan, R. 2022. Bio-functionalized zinc oxide nanoparticles: Potential toxicity impact on freshwater fish *Cyprinus carpio*. Chemosphere 290, 133220
- Randall D, Burggren W, French K (2002). Eckert animal physiology: mechanisms and adaptations, 5th edn. Freeman, New York.
- Remya, A.S., Ramesh, M., Saravanan, M., Poopal, R.K., Bharathi, S., Nataraj, D. 2015. Iron oxide nanoparticles to an Indian major carp, *Labeo rohita*: Impacts on hematology, ion regulation and gill Na⁺/K⁺ ATPase activity. Journal of King Saud University – Science 27, 151–160
- Ren, G., Hu, D., Cheng, E.W.C., Vargas-Reus, M.A., Reip, P., Allaker, R.P., (2009). Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications. Int. J. Antimicrob. Agents 33, 587–590.
- Reyhan, İ.Ç., (2014). *Oreochromis niloticus* da bakır ve kadmiyum birikiminde kalsiyum ve zeolitin etkileri. Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Yüksek Lisans Tezi,
- 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.
- Roach AC, Maher W, Krikowa F (2008) Assessment of metals in fish from Lake Macquarie, New South Wales, Australia. Arch Environ Contam Toxicol 54:292–308
- Roco, M.C. 2003. Nanotechnology convergence with modern biology and medicine. Curr. Opin. Biotechnol. 14, 337-346
- Rogers JT, Richards JG, Wood CM (2003). Ionoregulatory disruption as the acute toxic mechanism for lead in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquat Toxicol 64:215–234.
- Rogers JT, Wood CM (2004) Characterization of branchial lead–calcium interaction in the freshwater rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. J Exp Biol 207:813–825.
- Rogers JT, Patel M, Gilmour KM, Wood CM. (2005) Mechanisms behind Pb-induced disruption of Na⁺ and Cl[–] balance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Am J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 289:463–472.
- Sampaio, F.G., Bojink, C.de L., Santos, L.R.B., Oba, E.T., Kalinin, A.L., Luiz, A.J.B., Tadeu Rantin, F.T. 2012. Antioxidant defenses and biochemical changes in the neotropical fish pacu, *Piaractus mesopotamicus*: Responses to single and combined copper and hypercarbia exposure. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 156, 178–186.

- Sanchez, D.A., Consiglio, A., Richaud, Y., Rodri'guez-Piza, I., Dehay, B., Edel, M., Bove, J., Memo, M., Vila, M., Raya, A., Izpisua Belmonte, J.C., (2012). Efficient generation of A9 midbrain dopaminergic neurons by lentiviral delivery of LMX1A in hu- man embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells. *Hum. Gene Ther.* 23, 56–69.
- Santore RC, Mathew R, Paquin PR, Di Toro D (2002). Application if the biotic ligand model to predicting zinc toxicity to rainbow trout, *fathead minnow*, and *Daphnia magna*. *Comp Biochem Physiol C* 133:271–285.
- 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 Immunol.* 32, 862–868.
- Sauer GR, Watabe N (1988). The effects of heavy metals and metabolic inhibitors on calcium uptake by gills and scales of *Fundulus heteroclitus* in vitro. *Comp Biochem Physiol C* 91:473–478.
- Saxena, T.B., Zachariassen, K.E., and Jorgensen, L., 2000. Effects of Ethoxyquin on the Blood Composition of Turbot, *Scophthalmus maximus* L. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 127: 1–9.
- Scown, T.M., Santos, E.M., Johnston, B.D., Gaiser, B., Baalousha, M. (2010). Effects of Aqueous Exposure to Silver Nanoparticles of Different Sizes in Rainbow Trout. *Toxicol Sci*, 115, (2), 521–534.
- Schultz, A.G., Ong, K.J., MacCormack, T., Ma,G., Veinot, J.G., Goss, G.G., (2012). Silver nanoparticles inhibit sodium uptake in juvenile Rainbowtrout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ. Sci.Technol.*46,10295–10301.
- Shahsavarani, A., McNeill, B., Galvez, F., Wood, C.M., Goss, G.G., Hwang, P.-P., Perry, S.F., 2006. Characterization of a branchial epithelial calcium channel (ECac) in freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Exp. Biol.* 209, 1928–1943.
- 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.
- Shearer, K.D. (1984) Changes in elemental composition of hatchery-reared rainbow trout, *Salmo gairdneri*. associated with growth and reproduction. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 41, 1592~1600.
- Shephard, K and Simkiss, J. (1978). The effects of heavy metals on Ca²⁺ ATPase extracted from fish Gills. *Comp. Biochem. Physiol.* 61B: 69-72.

- Shirdel, I., Kalbassi, M. R. 2016. Effects of nonylphenol on key hormonal balances and histopathology of the endangered Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*). Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology 183:28–35
- Shobana, C., B Rangasamy, B., Poopal, R.K., Sivashankar Renuka, S., Mathan 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. 63:544–553.
- Skaggs HS, Henry RP (2002) Inhibition of carbonic anhydrase in the gills of two euryhaline crabs, *Callinectes sapidus* and *Carcinus maenas*, by heavy metals. Comp Biochem Physiol 133C:605–612.
- Simkiss, K., Taylor, M.G., 1989. Metal fluxes across the membranes of aquatic organisms. Aquat. Sci. 1, 173–188.
- Sola, F., Isaia, J., Masoni, A., 1995. Effects of copper on gill structure and transport function in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. J. Appl. Toxicol. 15, 391–398.
- Soliman, H.A.M., Hamed, M., Sayed, A. H., 2021. Investigating the effects of copper sulfate and copper oxide nanoparticles in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) using multiple biomarkers: the prophylactic role of Spirulina. Environmental Science and Pollution Research. 28:30046–30057.
- Srikanth, K., Pereira, E., Duarte, A.C., Rao, J.V., (2016). Evaluation of cytotoxicity, morphological alterations and oxidative stress in Chinook salmon cells exposed to copper oxide nanoparticles. Protoplasma 253 (3):873–884.
- Stagg, R.M. and Shuttleworth, T.J. (1982). The effects of copper on ionic regulation by the gills of saltwater adapted flounder (*Platichthys flesus*). Comp. Biochem. Physiol. 149:83-90.
- Suresh, A., Sivaramakrishna, B. and Radhakrishnaiah, K., 1995. Cadmium Induced Changes in Ion Levels and ATPase Activities in the Muscle of the Fry and Fingerlings of the Freshwater Fish, *Cyprinus carpio*. Chemosphere, Vol.30 (2): 365-375
- Suvetha L, Ramesh M, Saravanan M. 2010. Influence of cypermethrin toxicity on ionic regulation and gill Na⁺, K⁺-ATPase activity of a freshwater teleost fish *Cyprinus carpio*. Environ Toxicol Pharmacol; 29: 44–9.
- Syberg, K., Hansen, S.F., (2016). Environmental risk assessment of chemicals and nanomaterials the best foundation for regulatory decision-making. Sci. Total Environ. 541, 784–794.
- Tan, X.Y., Luo, Z., Liu, X., Xie, C.X., (2011). Dietary copper (Cu) requirement for juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. Aquac. Nutr. 17, 170–176.

- Tao, S., Liu, C., Dawson, R., Cao, J., Li, B., 1999. Uptake of particulate lead via the gills of fish (*Carassius auratus*). Arch. Environ. Contam. Toxicol. 37, 352-357.
- Taylor, L.N., McGeer, J., Wood, C., McDonald, G., (2000). Physiological effects of chronic copper exposure to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in hard and soft water: evaluation of chronic indicators. Environ. Toxicol. Chem. 19, 2298–2308.
- Tellis, M.S., Alsop, D., Wood, C.M. 2012. Effects of copper on the acute cortisol response and associated physiology in rainbow trout. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 155, 281–289
- Thaker, J., Chhaya, J., Nuzhat, S., Mittal, R., Mansuri, A.P. and Kundu, R. 1996. Effects of Chromium (VI) on Some Ion-Dependent ATPases in Gills, Kidney and Intestine of Coastal Teleost *Periophthalmus dips.* Toxicology, 112: 237-244.
- Torrebanca, A., Del Ramo, J. and Diaz mayans, J. (1989). Gill ATPase activity in *Procambarus clarkii* as an indicator of heavy metal pollution. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 42: 829-834.
- Towle, D.W. (1981). Role of Na, K-ATPase in ionic regulation by marine and estuarine animals. Mar. Biol. Lett. 2:107-122.
- Tunçsoy, M. (2019). Bakır Oksit Nanopartiküllerinin *Clarias gariepinus*'da Bazı Serum Parametreleri Üzerine Etkisi. Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi, 4(3), 387-392.
- Uysal K, Emre Y, Koşse 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.
- Vance, M.E., Kuiken, T., Vejerano, E.P., McGinnis, S.P., Hochella Jr., M.F., Rejeski, D., et al., 2015. Nanotechnology in the real world: redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. Beilstein. J. Nanotechnol. 6, 1769–1780.
- Verboost PM, Schoenmakers TJM, Flik G, Wendelaar Bonga SE 1994. Kinetics of ATP- and Na⁺-gradient driven Ca²⁺ transport in basolateral membranes from gills of freshwater- and seawater adapted tilapia. J Exp Biol 186:95–108
- Velma V, Tchounwou, P.B. (2010) Chromium-induced biochemical, genotoxic and histopathologic effects in liver and kidney of goldfish, *Carassius auratus*. Mutat Res 698:43–51
- Vinodhini R, Narayanan R (2008) Bioaccumulation of heavy metals in organs of fresh water fish *Cyprinus carpio* (Common carp). Int J Environ Sci Tech 5:179–182.
- Vutukuru, S.S., Suma, C., Madhavi, K.R., Pauleena, J.S., Rao, J.V., Anjaneyulu, Y. (2005). Studies on The Development of Potential Biomarkers for Rapid Assessment of Copper Toxicity to Freshwater Fish using *Esomus danricus* as Model. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2:63-73.
- Wang, D., Xie, T., Li, Y., (2009). Nanocrystals: solution-based synthesis and applications as nanocatalysts. Nano Res. 2, 30–46.

- Wang, Z., von-dem-Bussche, A., Kabadi, P. K., Kane, A. B., & Hurt, R. H. (2013). Biological and environmental transformations of copper-based nanomaterials. *ACS Nano*, 7, 8715e8727.
- Wang T, Long X, Cheng Y, Liu Z, Yan S. (2014). The potential toxicity of copper nanoparticles and copper sulphate on juvenile *Epinephelus coioides*. *Aquat. Toxicol.* 152:96–104.
- Wang T, Long X, Liu Z, Cheng Y, Yan S. (2015). Effect of copper nanoparticles and copper sulphate on oxidation stress, cell apoptosis and immune responses in the intestines of juvenile *Epinephelus coioides*. *Fish Shellfish Immunol.* 44 (2):674–82.
- Watson, T.A., and Beamish, F.W.H., 1980. Effects of Zinc on Branchial ATPase Activity In Vivo in Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 66: 77-82.
- Webb, N.A., Wood, C.M., (1998). Physiological analysis of the stress response associated with acute silver nitrate exposure in fresh water rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ. Toxicol. Chem.* 17, 579–588.
- Weber, R.E., A. de Zwaan and A. Bang (1992). Interactive effects of ambient copper and anoxia, temperature and salinity stress on survival and hemolymph and muscle tissue osmotic in *Mytilus edulis*. 1. *Exp. Mar. Biol. Ecol.* 159. 131-156.
- Wells N.R., Phillips, J.B., Murphy, G.G. 1974. ATPases activity in tissues of the map turtle *Graptemys geographica* following in vitro treatments with aldrin and dieldrin. *Bull Environ Contam Toxicol* 11: 572-576.
- Wood C.M. 1992. Flux measurements as indices of H and metal effects on freshwater fish. *Aquat Toxicol* 22:239–264.
- Wood, C. M., Playle, R. C., & Hogstrand, C. 1999. Physiology and modeling of mechanisms of silver uptake and toxicity in fish. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18(1), 71–83
- Wood, C.M., 2001. In: Schlenk, D., Benson, W.H. (Eds.), *Target Organ Toxicity in Marine and Freshwater Teleosts* Toxic responses of the gill vol. I. Taylor & Francis, London, pp. 1–89.
- Wu S.M, Jong K.J, Kuo, S.Y. 2003. Effects of copper sulfate on ion balance and growth in tilapia larvae (*Oreochromis mossambicus*). *Arch Environ Contam Toxicol* 45:357–363.
- Wu, S.M., Hui Ru Ding, H.R., Li-Lin, Li-Y. Lin, Yu-S. 2008. Juvenile Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) Strive to Maintain Physiological Functions After Waterborne Copper Exposure. *Arch Environ Contam Toxicol*. 54:482–492.
- Wu, Y., Zhou, Q. 2013. Silver nanoparticles cause oxidative damage and histological changes in medaka (*Oryzias latipes*) after 14 days of exposure. *Environ. Toxicol. Chem.* 32, 165–173.
- Xiong, D., Fang, T., Yu, L., Sima, X., Zhu, W., 2011. Effects of Nano-Scale TiO₂, ZnO and Their Bulk Counterpart on Zebrafish: Acute Toxicity, Oxidative Stress and Oxidative Damage. *Science of the Total Environment*, 409:1444-1452.
- Yamakage, M., Namiki, A., 2002. Calcium channels-basic aspects of their structure, function and gene encoding; anesthetic action on the channels – a review. *Can. J. Anaesth.* 49, 151–164.

- Yılmaz AB, Sangun MK, Yaglioglu D, Turan C. (2010). Metals (major, essential to non-essential) composition of the different tissues of three demersal fish species from Iskenderun Bay, Turkey. *Food Chem*;123:410-415.
- Zhao, J., Wang, Z., Liu, X., Xie, X., Zhang, K., Xing, B., 2011. Distribution of CuO Nanoparticles in Juvenil Carp (*Cyprinus carpio*) and Their Potential Toxicity. *Journal of Hazardous Materials*, 197:304-310.
- Zhang, L., Wang, W.X. (2007b) Gastronintestinal uptake of cadmium and zinc by a marine teleost *Acanthopagrus schlegeli*. *Aquat Toxicol* 84:173–181
- 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

Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı : VARKAL SAĞ Hazal

Eğitim

Derece Kurum Mezuniyet Yılı

Yüksek Lisans: Ç. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Lisans: Ç.Ü. Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü

Ortaöğretim: Danişmentgazi Anadolu Lisesi

Çalışma Tecrübesi

Yıl İşyeri Unvan

Halen Gıda ve ilaç sektörlerinde çalışmakta

Yayınlar

1. Aytekin T., Karğın D., Coğun H. Y., Temiz O., **Varkal H. S.**, Kargın F., "Accumulation and health risk assessment of heavy metals in tissues of the shrimp and fish species from the Yumurtalık coast of Iskenderun Gulf, Turkey", HELIYON, cilt.5, sa.8, 2019.
2. Coğun H. Y., Firat O., Aytekin T., Firidin G., Firat O., **Varkal H.**, Temiz O., KARGIN F., "Heavy Metals in the Blue Crab (*Callinectes sapidus*) in Mersin Bay, Turkey", Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology, cilt.98, sa.6, ss.824-829, 2017.
3. Coğun H. Y., Firidin G., Aytekin T., Firat O., Firat O., Temiz O., **Varkal H. S.**, Kargın F., "Acute Toxicity of Nitrite on Some Biochemical, Hematological and Antioxidant Parameters in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L, 1758)", Fresenius Environmental Bulletin, cilt.26, ss.1712-1719, 2017