

## Çinko Oksit Nanopartikülleri ve Çinko Sülfatın *Oreochromis niloticus*'un Kan Dokusunda Bazı Biyokimyasal Parametreler üzerine Etkisi<sup>[\*]</sup>

Ecem PALANDÖKENLİER<sup>1</sup> Ferit KARGIN<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü.

 <https://orcid.org/0000-0002-0400-5744>

<sup>2</sup>Çukurova Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Sarıçam/Adana.

 <https://orcid.org/0000-0003-4315-5689>

Received date: 08.10.2019

Accepted date: 22.11.2019

Atf yapmak için: Kargin, F. (2019). Çinko Oksit Nanopartikülleri ve Çinko Sülfatın *Oreochromis niloticus*'un Kan Dokusunda Bazı Biyokimyasal Parametreler üzerine Etkisi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 4(3), 447-453.

How to cite: Kargin, F. (2019). The Effects of Zinc Oxide Nanoparticles and Zinc Sulphate on Some Biochemical Parameters in Blood Tissue of *Oreochromis niloticus*. *Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 4(3), 447-453.

**Öz:** Bu çalışmada, *Oreochromis niloticus*'un kan dokusunda çinko oksit nanopartikülleri ve çinko sülfatın biyokimyasal parametreler üzerine etkileri incelenmiştir. Kan dokusunda biyokimyasal parametreleri (Glikoz, Total Protein, Kolesterol, Trigliserit, Kortizol) belirlemek için balıklar 48 saat ve 28 gün boyunca 0.5 mg / L ve 1.5 mg / L ZnONP ve 0.5 mg / L and 0.5 mg / L ZnSO<sub>4</sub>'e maruz bırakılmıştır. *O. niloticus*'da ZnONP ve ZnSO<sub>4</sub> serum parametreleri ve enzim aktivitelerinde değişikliğe neden olmuştur. 28 günlük deney süresi sonunda hem ZnSO<sub>4</sub> hemde ZnO NP'ye maruz kalan balıkların serum trigliserid ve kortizol düzeyleri artarken serum kolesterol düzeyleri kontrole oranla azalmıştır. Serum glikoz ve total protein düzeyleri, maruz kalma süresinin sonunda sadece ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisinde artmıştır.

**Anahtar sözcükler:** Çinko, nanopartikül, *O. niloticus*, serum parametreleri.

## The Effects of Zinc Oxide Nanoparticles and Zinc Sulphate on Some Biochemical Parameters in Blood Tissue of *Oreochromis niloticus*

**Abstract:** In this study, effects of zinc oxide nanoparticles and zinc sulphate on biochemical parameters and enzyme activity in blood tissue of *Oreochromis niloticus* were investigated. The fish were exposed to 0.5 mg / L and 1.5 mg / L ZnONP and 0.5 mg / L and 1.5 mg / L ZnSO<sub>4</sub> for 48 hours and 28 days to determine biochemical parameters (Glucose, Total Protein, Cholesterol, Triglyceride, Cortisol) in blood tissue. In *O. niloticus*, serum parameters and enzyme activities were changed with the effect of ZnONP and ZnSO<sub>4</sub>. At the end of the 28<sup>th</sup> day, in both ZnSO<sub>4</sub> and ZnONP-exposed fish serum triglyceride and cortisol levels increased, while serum cholesterol levels decreased compared with control. Serum glucose and total protein levels increased in the influence of ZnSO<sub>4</sub> at the end of the exposure period.

**Keywords:** Nanoparticles, *O. niloticus*, serum parameters, zinc..

[\*] Bu araştırma Yüksek Lisans çalışmasından üretilmiştir.

[\*] This research was produced from the Master's study.

## GİRİŞ

Ağır metallerin, metabolik ve fizyolojik, davranışsal ve ekolojik olarak balıklar üzerinde geniş bir etkiye sahiptirler. Gözlenen etkiler arasında, ozmoregülasyon, solunum bozukluğu, doku hasarı ve enerji kaynaklarının azaltılması sayılabilir.

Nanoteknoloji ve nanomateryallerin kullanımı, bilim ve teknolojide nispeten yeni olup, küresel piyasa değerleri artan bir eğilim göstermektedir. Nanoteknoloji endüstrisindeki mevcut büyüme ve artan sayıda nanopartiküllerin (NP) üstün özelliklerini kullanan ürünlerin sayısı, küresel ekonomide son derece önemli hale gelmiştir.

Metal oksit nanoparçacıklarının kullanımının hızla artması, bu parçacıkların çevreye kontrolsüz olarak bırakılmasına neden olmaktadır. Günümüzde, bazı nano parçacıklar su ekosistemlerinde belirlenmiştir (Klaine vd., 2008; Scown vd., 2010 a, b). Su ekosistemleri ve sudaki besin zincirini oluşturan su organizmaları, antropojenik faaliyetlerden salınan nanoparçacıkların etkileri nedeniyle risk altındadır (Gottschalk vd., 2013).

Çinko oksit (nano-ZnO) partikülleri tipik metal oksit NP'leridir ve bunlar yanmaz ve kokusuz beyaz tozlardır. Çinko oksit nanopartikülleri (ZnO NP), biyomedikal uygulamalar, güneş pilleri, LCD'ler, elektrik, optik, biyosensör, seramik, gıdalar ve kozmetik gibi çok çeşitli ürünlerdeki en yaygın kullanılan metal oksit nano partiküllerinden biridir (Vaseem vd., 2010).

Suda yaşayan organizmaların NP'lere maruz kalması, biyokimyasal bozulmalara ve / veya adaptif tepkilere neden olabilir ve buna biyolojik yanıtlar veya biyomarkırlar, su organizmalarının sağlık durumunu değerlendirmek için kullanılmaktadırlar (Zhu vd., 2008; Binelli vd., 2009; Lu vd., 2011). Hematolojik, biyokimyasal ve iyon regülasyon biyomarkırlarının analizi, toksik maddenin etki mekanizmasını ve stres koşulları altında organizmaların fizyolojik durumlarını belirlemek için yaygın olarak kullanılır (Kavitha vd., 2010; Saravanan vd., 2011; Sathya vd., 2012; Ambili vd., 2013).

Metal çeşidine, balık türüne, su kalitesine ve etkide kalma süresine bağlı olarak bazı metallerin hemoglobin, hematokrit, plazma proteini, plazma ozmolalitesi, kortizol, glikoz ve kan enzimlerini arttırıp azaltabileceği gösterilmiştir (Cyriac vd., 1989; Munoz vd., 1991). Bu parametrelerin çoğu, metallerin subletal konsantrasyonlarına maruz kaldıktan sonra hızla tepki verirler. Hayvan, stres etmenini telafi edebiliyorsa veya uzaklaştırabiliyorsa, bu tepki geçicidir (Thomas, 1990). Biyokimyasal parametreler arasında plazma glikozu ve protein toksik stresin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Kavitha vd., 2010).

Çinko nanopartiküllerinin ve çinko sülfatın 0.5 ve 1.5 mg/L derişimlerinin 4 ve 28 günlük sürelerle *Oreochromis niloticus*'un, serum parametreleri (Glikoz, Total

Protein, Kolesterol, Trigliserit, kortizol) üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır

## MATERYAL VE METOT

Araştırmada kullanılan *O. niloticus* Çukurova Üniversitesi Su ürünleri Fakültesi üretim havuzlarından alınarak Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Ekofizyoloji laboratuvarına getirilen balıklar her biri 40x120x40 cm boyutlarındaki stok akvaryumlar içerisinde 2 ay süreyle laboratuvar ortam koşullarına adaptasyonları sağlanmıştır. Bu süre sonunda deneyde kullanılan balıklar 17.50±1.40 cm boy ve 94.65±4.21 g ağırlığa ulaşmışlardır. Yerel Etik Kurulu ilkelerine uyulmuştur.

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

Deneyler için ZnONP her gün taze stok solüsyon şeklinde hazırlanmıştır. Stok solüsyonda ultra saf su (18 MΩ/cm) kullanılarak vorteks ile 6 saat karıştırılarak çözüldürülmüştür. Örneklerin NP boyutu ve yüzey yükünün belirlenmesi için analizi yapılmış ve karakteristik özellikleri taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile stok solüsyon ve yüksek doz ZnONP 1.5 mg/L etkisindeki akvaryum çözeltilisinden belirlenmiştir (Tablo 1).

**Tablo 1.** ZnO-NP'nin taramalı elektron mikroskop (SEM) ile ölçüm sonuçları.

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

\*sigma aldrich katalogundaki ZnO-NP değeri

Deneyler, ZnONP ve ZnSO<sub>4</sub> dikkate alınarak iki seri olarak yürütülmüştür. Balıklar birinci seride ZnONP'nin 0.5 ve 1.5 mg/L derişimlerine, ikinci seride ZnSO<sub>4</sub>'un 0.5 ve 1.5 mg/L ortam derişimlerinin etkisine 4 ve 28 gün sürelerle bırakılmıştır.

Deneylerde 40X120X40 cm. boyutlarında olan 5 cam akvaryum kullanılmıştır. Her bir akvaryuma 12 balık konulmuş, toplamda 60 balık kullanılmıştır. Birinci seride bu akvaryumlardan ikisine 120'şer litre 0.5 ve 1.5 mg/L ZnONP çözeltileri, ikinci serideki akvaryumlardan ikisine ZnSO<sub>4</sub>'un 0.5 ve 1.5 mg/L lik çözeltilerinden 120'şer litre konulmuştur. Beşinci akvaryuma ise metal içermeyen çeşme suyu konulup kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Deneyler üç tekrarlı olarak yürütülmüştür ve her tekrarda iki balık kullanılmıştır. Deney çözeltilerinin hazırlanmasında bakır sülfat (Sigma Aldrich, ZnSO<sub>4</sub>:5H<sub>2</sub>O) ve çinko oksit nanopartikülü (Sigma-Aldrich; ZnO; partikül boyutu <100nm) kullanılmıştır

Belirlenen her sürenin sonunda balıklar çeşme suyu ile iyice yıkanmış ve kurutma kâğıdı ile yüzeylerinde bulunan su damlacıkları alınmıştır. Balıklar kuyruk bölgesinden kesilerek dorsal aortadan kanları alınmıştır. Kan örnekleri içinde herhangi bir madde bulunmayan içi boş tüplere alınmıştır.

Serum parametreleri belirlenmesi amacıyla tüplere alınan kan örnekleri, 3000 rpm’de 10 dakika süreyle santirfüj (Hettich EBA 8S) edilmiştir. Elde edilen serum örnekleri eppendorf tüplerine alınmış ve analize hazır hale getirilmiştir. Serum parametrelerinin analizlerinde Ç.Ü. Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarındaki Beckman Coulter UniCel DXI 800 ve AU5800 marka otoanalizator cihazları kullanılmıştır.

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

## BULGULAR

Bu çalışmada; ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub> ‘nin 4 ve 28 gün sürelerle *O. niloticus*’da serum parametreleri (Glikoz, Total Protein, Kolesterol, Trigliserit, Kortizol) üzerine etkileri belirlenmiştir.

ZnONP ve ZnSO<sub>4</sub>’ın etkisindeki serum glikoz düzeyi 4 günlük etki süresi sonunda tüm derişimlerde kontrole göre önemli bir değişim göstermediği, 28 günlük etki süre sonunda ise sadece ZnSO<sub>4</sub> etkisinde her iki derişimde de kontrole göre bir artış gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 2; P<0.05).

**Tablo 2.** ZnONP ve ZnSO<sub>4</sub>’ün etkisine bırakılan *O. niloticus*’da serum glikoz düzeyleri (mg/dL).

Derişim	Süre (Gün)	
	4	28
	$\bar{X} \pm s\bar{x} *$	$\bar{X} \pm s\bar{x} *$
Kontrol	32.00±1.52 xa	31.00±0.57 xa
0.5 mg/L ZnO NP	32.33±0.88 xa	32.66±2.90 xa
1.5 mg/L ZnO NP	33.66±1.30 xa	35.33±1.48 xa
Kontrol	32.00±1.52 xa	31.00±0.57 xa
0.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub>	35.66±0.66 xa	35.33±0.57 ya
1.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub>	32.66±1.45 xa	36.33±1.20 ya

\*SNK; x ve y harfler derişimler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında düzeyinde istatistik ayırım vardır (P < 0.05).

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

ZnONP ‘in etkisindeki serum total protein düzeyi 4 günlük etki süresi sonunda denenen her iki derişimde de kontrole göre önemli bir değişim göstermezken, ZnSO<sub>4</sub> etkisinde her iki ortam derişiminde kontrole göre artmıştır. 28 günlük etki süre sonunda ise sadece ZnSO<sub>4</sub> etkisinde hem 0.5 mg/L hemde 1.5 mg/L’lik ortam derişimlerinde kontrole göre artış gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 3; P<0.05).

**Tablo 3.** ZnONP ve ZnSO<sub>4</sub>’ün etkisine bırakılan *O. niloticus*’da serum total protein düzeyleri (g/dL).

Derişim	Süre (Gün)	
	4	28
	$\bar{X} \pm s\bar{x} *$	$\bar{X} \pm s\bar{x} *$
Kontrol	2.80±0.57 xa	2.40±0.20 xa
0.5 mg/L ZnO NP	2.76±0.23 xa	2.65±0.10 xa
1.5 mg/L ZnO NP	2.70±0.05 xa	2.76±0.26 xa
Kontrol	2.80±0.57 xa	2.40±0.20 xa
0.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub>	3.46±0.08 ya	3.80±0.05 yb
1.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub>	3.73±0.16 ya	3.56±0.08 ya

\*Kısaltmalar Tablo 1’de kullanıldığı gibidir.

Denene her iki süre sonunda hem ZnONP hemde ZnSO<sub>4</sub> etkisinde denenen tüm ortam derişimlerinde serum total kolesterol düzeyleri kontrole göre azalış gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 4; P<0.05).

**Tablo 4.** ZnONP ve ZnSO<sub>4</sub>’ün etkisine bırakılan *O. niloticus*’da serum total kolesterol düzeyleri (mg/dL).

Derişim	Süre (Gün)	
	4	28
	$\bar{X} \pm s\bar{x} *$	$\bar{X} \pm s\bar{x} *$
Kontrol	345.33±9.68 xa	321.33±7.05 xa
0.5 mg/L ZnO NP	255.66±19.8 ya	233.66±12.5 ya
1.5 mg/L ZnO NP	274.60±6.96 ya	220.83±3.63 yb
Kontrol	345.33±9.68 xa	321.33±7.05 xa
0.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub>	279.33±5.66 ya	216.66±4.05 yb
1.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub>	264.60±13.8 ya	209.66±4.25 yb

\*Kısaltmalar Tablo 1’de kullanıldığı gibidir.

Hem ZnONP hemde ZnSO<sub>4</sub> ‘in etkisindeki serum trigliserid düzeyi 4 günlük etki süresi sonunda denenen tüm derişimlerde kontrole göre önemli bir düzeyde artmıştır (Tablo 4; P<0.05). Bu artış ZnONP ve ZnSO<sub>4</sub>’ün düşük ve yüksek derişimleri arasında da istatistiksel ayırım göstermiştir. 28 günlük etki süre sonunda ise hem ZnONP hemde ZnSO<sub>4</sub> etkisinde denenen tüm ortam derişimlerinde serum trigliserid düzeyleri kontrole göre artış göstermiştir (Tablo 5; P<0.05).

**Tablo 5.** ZnONP ve ZnSO<sub>4</sub>’ün etkisine bırakılan *O. niloticus*’da serum trigliserid düzeyleri (mg/dL).

Derişim	Süre (Gün)	
	4	28
	$\bar{X} \pm s\bar{x} *$	$\bar{X} \pm s\bar{x} *$
Kontrol	197.1±3.76 xa	220.2±6.75 xa
0.5 mg/L ZnO NP	326.3±3.85 ya	359.7±12.3 ya
1.5 mg/L ZnO NP	353.3±1.66 za	367.9±21.4 ya
Kontrol	197.1±3.76 xa	220.2±6.75 xa
0.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub>	432.0±8.14 ya	458.8±9.09 ya
1.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub>	379.8±13.1 za	453.5±6.33 yb

\*Kısaltmalar Tablo 1’de kullanıldığı gibidir.

Hem ZnONP hemde ZnSO<sub>4</sub> 'ın etkisindeki serum kortizol düzeyi her iki süre sonunda denenen tüm ortam derişimlerinde kontrole göre önemli bir düzeyde arttığı belirlenmiştir (Tablo 6; P<0.05).

**Tablo 6.** ZnONP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da serum kortizol düzeyleri (µg/dL).

Derişim	Süre (Gün)	
	4	28
	$\bar{X} \pm s\bar{x} *$	$\bar{X} \pm s\bar{x} *$
Kontrol	2.24±0.29 xa	2.06±0.10 xa
0.5 mg/L ZnO NP	3.35±0.39 ya	3.38±0.33 ya
1.5 mg/L ZnO NP	4.02±0.08 ya	3.67±0.45 ya
Kontrol	2.24±0.29 xa	2.06±0.10 xa
0.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub>	5.10±0.60 ya	4.91±0.26 ya
1.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub>	5.00±0.15 ya	4.75±0.05 ya

\*Kısaltmalar Tablo 1'de kullanıldığı gibidir.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu araştırmada 1.5 mg/L ZnONP ve ZnSO<sub>4</sub>'ın ortam derişimlerinde deneylerin sona erdirildiği 28 günlük süre içerisinde balıklarda ölüm gözlenmemiştir. *O. niloticus* ile yürütülen bu araştırmada ZnONP ve ZnSO<sub>4</sub> etkisinde 28 günlük deney süresince balıklarda besini değerlendirmeme, akvaryum dibinde kümeleşme ve yüzme hareketlerinde dengesizlik gibi davranış değişiklikleri görülmüştür. ZnONP'nin yüksek konsantrasyonlarının (50.0 mg/L ) etkisine bırakılan *Cyprinus carpio* balıkları ilk günlerde olağandışı davranışlar sergilediği belirlenmiş, buna ek olarak, balıkların suda aşırı derecede mukus salgıladıkları saptanmıştır (Hao & Chen, 2012).

Ağır metaller ve metal nanopartiküller hemen tüm organizmalarda vücuda deri, besin ve solungaç yoluyla alınmakta ve kan yoluyla iç organlara taşınarak dokularda biriktirilebilmektedir (Bury vd., 2003; Handy vd., 2008; Hao vd., 2013).

Biyokimyasal parametreler, stres araştırması için hassas parametreler olarak kabul edilmekte ve balıklarda çevresel stresin hassas bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Kavitha vd., 2010). Suda yaşayan organizmada metaller, hücrenin normal işleyişini bozabilmekte bu da hayvanların biyokimyasal mekanizmalarında değişikliklere neden olmaktadır (Çoğun & Kargın, 2019). Sudaki kirlenici maddelerin karbonhidrat mekanizması üzerindeki etkisi, glikoz, glikojen ve laktik asit içeriğinde değişiklikleri içermektedir (Sathya vd., 2012).

Glikoz, bir organizmanın stresli durumunu değerlendirmek için en hassas indekslerden biridir; kandaki yüksek konsantrasyonu bir balığın stres altında olduğunu ve enerji rezervlerini (karaciğer ve kaslardaki glikojen) yoğun olarak kullandığını gösterir (Lee vd., 2014). Serum glikoz düzeylerindeki değişiklikler stres tepkisinin ikincil bir markırı olarak kabul edilir (Toa vd., 2004) ve çevre kirlenicilerine maruz kalan organizmalarda sıklıkla ölçülür. Glikoz, yüksekliği ağır metaller de içeren birçok stres

faktörüne karşı ilk tepki olarak ortaya çıkar ve kortikosteroidler tarafından salınır (Chaudhry, 1984). Cd'un etkisine bırakılan *Tilapia zilli*'de glikoz düzeyi metal derişimine ve süreye bağlı olarak artmıştır (Ghazaly, 1992). Bakırın etkisine bırakılan *O. niloticus*'da, etkide kalma süresi boyunca plazma glikoz düzeyleri belirgin olarak arttığı belirtilmiştir (Monteiro vd., 2005). ZnONP'lere maruz bırakılan *O. niloticus* balıklarında kan glikoz düzeyindeki artışların, ZnONP'lerin neden olduğu strese bağlı olduğunu (Farsania vd., 2017) ve artan enerji talebini yansıttığını belirtmişlerdir (Barton, 2002). ZnONP'lere 12 hafta boyunca maruz bırakılan *C. carpio*'da serum glikoz düzeyinde arttığı ve glikoz düzeyindeki bu artışın, ZnONP'lere uzun süre maruz kalınması sonucu oluşan karaciğer hasarıyla ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir (Lee vd., 2014). AgNO<sub>3</sub> akut ve subletal etkisine bırakılan *Cirrhinus mrigala* balıklarında serum glikoz düzeyindeki artışın, gümüşün neden olduğu artan metabolik talepler için enerji sağlamak amacıyla olduğu belirtilmiştir (Sathya vd., 2012). Bu araştırmada da ZnONP'nin her iki ortam derişimi ve denenen her iki sürede de balıkların serum glikoz düzeyinde herhangi bir derişim gözlenmezken, 28 günlük etki süresinde ZnSO<sub>4</sub>'ün her iki ortam derişiminde serum glikoz düzeyi artış göstermiştir. 4 günlük etki süresinde 0.5 mg/L'lik ortam derişiminde serum glikoz düzeyi ZnSO<sub>4</sub> etkisinde ZnONP'e oranla daha fazla artış göstermiştir. ZnSO<sub>4</sub> etkisinde serum glikoz düzeyindeki bu artış balıkların strese girmeleri, solunum hızının artması ve artan enerji talebini karşılanması sonucu olabileceği düşünülmektedir.

Total serum proteinleri karaciğerde sentezlenen esas serum proteinleri olup, genelde karaciğer rahatsızlığının bir belirteci olarak kullanılır. Toksik maddelerin neden olduğu stres koşullarında organizmaların genel sağlık durumunu anlamak için önemli bir biyokimyasal parametre olarak protein düzeyi kullanılmaktadır (Lavanya vd., 2011), Cd'un etkisine bırakılan *T. zilli*'nin kan total protein düzeyindeki değişikliklerin meydana geldiği ve bu değişikliklerin, metalin konsantrasyonuna ve etkide kalma süresine bağlı olarak artış gösterdiği belirtilmiştir (Ghazaly, 1992). CuSO<sub>4</sub> etkisine bırakılan *O. niloticus*'da total protein düzeyi kısa süreli etkide artış göstermiştir (Chen vd., 2004). Pb etkisine bırakılan *Oreochromis mossambicus*'ta total protein düzeyinin arttığı araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (Ruparelia vd., 1989). Çinko ve bakır etkisinde *C. carpio*'da total serum protein düzeyinin arttığı belirtilmiştir (Cicik, 1995). Bu araştırmada da ZnONP'nin her iki ortam derişimi ve denenen her iki sürede serum total protein düzeyinde herhangi bir derişim gözlenmezken, ZnSO<sub>4</sub>'ün tüm ortam derişimi ve etki süresinde serum total protein düzeyi artış göstermiştir. Denenen her iki sürede de 1.5 mg/L'lik ortam derişiminde serum total protein düzeyindeki artış ZnSO<sub>4</sub> etkisinde ZnONP'e oranla daha fazla olmuştur. ZnSO<sub>4</sub> etkisinde serum total protein düzeyindeki bu artış, büyük bir olasılıkla

karaciğerde sentezlenen taşıyıcı proteinlerin kana geçmesi sonucu olduğu düşünülmektedir.

Kolesterol membranların önemli bir yapısal bileşeni olmasına ek olarak tüm steroid hormonlarının bir öncü maddesi olduğu bilinmektedir. Kolesterol ksenobiyotiklerin etkisindeki balıklarda stres tepkilerini değerlendirmede kullanılmaktadır. Serumdaki kolesterol düzeyi stres faktörlerinin etkisini incelemek için önemli bir parametredir (Gluth & Hanke, 1984; Öner vd., 2008). *C. carpio*'da biyokimyasal parametreler üzerine Cr'un etkisini belirlemek üzere yapılan bir çalışmada metal derişiminin artışına paralel olarak serum total kolesterol düzeyinde önemli azalmalar olduğu saptanmıştır (Shaheen & Akhtar, 2012). Subletal bakır derişimlerinin etkisinde *Oncorhynchus mykiss* balıklarında serum kolesterol düzeyinde azalmalar olduğu belirlenmiştir (Heydarnejad vd., 2013). Pb'nin etkisine bırakılan *O. mossambicus*'ta serum kolesterol düzeyinin yaklaşık olarak %50 düzeyinde azaldığı belirlenmiştir (Ruparella vd., 1989). Bu çalışmada denenen ZnONP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün tüm derişim ve sürelerde serum total kolesterol düzeyinin azaldığı saptanmıştır. Serum total kolesterol düzeyindeki bu azalış hem ZnONP hem de ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisinde derişim artışı ve sürenin uzamasına bağlı olarak daha fazla olmuştur. Bu çalışmada serum kolesterol düzeyindeki azalmalar, kolesterol sentezi üzerine ZnONP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün olumsuz etkileri sonucu kolesterol sentezindeki bozulmalardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Trigliserit düzeyi lipid metabolizmasını değerlendirmek için önemli bir parametredir ve bazı hastalık durumlarında yüksek düzeylere çıkabilmektedir. Trigliserit, temel olarak hücrel enerjiyi sağlamada işlev görür ve beslenme durumunun bir göstergesi olarak kullanılabilir (Yang & Chen, 2003). AgNO<sub>3</sub>'ün 0.05mg/L derişiminin etkisine farklı sürelerle bırakılan *O. niloticus*'da serum trigliserit düzeylerinin arttığı belirtilmiştir (Öner vd., 2008). Yang ve Chen (2003), gallium'a maruz kalan *C. carpio*'daki serum trigliserit düzeylerinin kontrole kıyasla önemli ölçüde arttığını göstermişlerdir. Bu çalışmada denenen her iki sürede ZnONP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün derişim artışlarına paralel olarak *O. niloticus*'da serum trigliserit düzeylerinin arttığı saptanmıştır. Genelde serum trigliserit düzeyindeki bu artış ZnSO<sub>4</sub> etkisinde kalan balıklarda ZnONP etkisinde kalan balıklara oranla daha fazla olmuştur. Serum trigliserit düzeyindeki bu artış metallerin olumsuz etkisi sırasında hücrel metabolizma değişiklikleri ile açıklanabilir.

Kortizol stres tepkisinde önemli bir rol oynamaktadır ve toksik maddelerin etkisinde güvenilir bir biyolojik belirteç olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Kortizol karbonhidrat metabolizmasını etkileyen önemli bir hormondur. Balıklarda kortizolün, hidromineral dengeyi sağlama ve enerji metabolizmasını düzenleme olmak üzere iki önemli görevi vardır (Nolan vd., 2003). Kortizol, kemikli balıklarda böbreğin üst kısmından, hipotalamus-hipofiz-

böbrek (hypothalamo-pituitary-interrenal (HPI) eksenini boyunca salgılanan bir hormondur (Pottinger, 1998) ve en önemli rolü, uzun süreli stres sırasında enerjinin kullanılabilirliğini artırmaktır. *O. niloticus*'da, bakırın etkisinde plazma kortizol ve glikoz düzeyleri belirgin olarak arttığı ve plazma kortizol düzeyindeki bu artışın, etkide kalma süresi boyunca yüksek kaldığı belirtilmiştir (Monteiro vd., 2005). Katuli vd., (2014) AgNP'lerin etkisine bıraktıkları *Danio rerio* balıklarında plazma kortizol düzeylerinin yükseldiğini ve bu durumun balıkların strese girmeleri sonucu olduğunu bildirmişlerdir. Gümüşün kronik etkisine bırakılan gökkuşuğu alabalığında (*O. mykiss*) kortizol düzeyinde artış olduğu belirtilmiştir (Braunera & Wood, 2002). Cd etkisine bırakılan *O. mykiss*'te plazma glikoz ve kortizol düzeylerinin arttığı gözlenmiştir (Ricard vd., 1998). Bu çalışmada ZnONP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün tüm derişim ve sürelerinin etkisinde serum kortizol düzeyi artış göstermiştir. Kortizol düzeyindeki bu artış ZnONP'ün etkisinde kalan balıklarda ZnSO<sub>4</sub> etkisinde kalan balıklara oranla daha fazla olmuştur. Bu çalışmada serum kortizol düzeyindeki artış, balıkların 28 günlük süre boyunca ZnONP ve ZnSO<sub>4</sub>'etkisinde strese kalmaları ve buna bir tepki göstermeleri nedeniyle olabileceği düşünülmektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi (BAP) tarafından (Proje No: FYL-2018-10685) desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

- Ambili, T.R., Saravanan, M., Ramesh, M., Abhijith, D.B. & Poopal, R.K. (2013).** Toxicological effects of the antibiotic oxytetracycline to an Indian major carp *Labeo rohita*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **64**, 494-503.
- Barton, B.A. (2002).** Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*, **42**, 517-525.
- 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*). *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology: CBP*, **150**(3), 329-336.
- Brauner, C.J. & Wood, C.M. (2002).** Effect of longterm silver exposure on survival and ionoregulatory development in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) embryos and larvae, in the presence and absence of added dissolved organic matter.

- Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, **133**, 161-173.
- Bury, N.R., Walker, P.A. & Glover, C.N. (2003).** Nutritive metal uptake in teleost fish. *The Journal of Experimental Biology*, **206**, 11-23.
- Chaudhry, H.S. (1984).** Nickel toxicity on carbohydrate metabolism of freshwater fish *Colisa fasciatus*. *Toxicology Letters*, **20**, 115-121.
- Chen, C.Y., Wooster, G.A. & Bowser, P.R. (2004).** Comparative blood chemistry and histopathology of tilapia infected with *Vibrio vulnificus* or *Streptococcus iniae* or exposed to carbon tetrachloride, gentamicin or copper sulphate. *Aquaculture*, **239**, 421-443.
- Cicik, B. (1995).** *Cyprinus carpio*'da bakır, çinko ve bakır + çinko karışımında solungaç, karaciğer ve kas dokularındaki metal birikiminin nicel protein, glikojen ve kandaki bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkileri. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, Türkiye, 108s.
- Çoğun, H.Y. & Kargın, F. (2019).** *Oreochromis niloticus*'un solungaç dokusu iyon düzeyleri üzerine kurşunun etkisi. *Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi*, **4**(1), 22-26. Doi: <https://doi.org/10.35229/jaes.527071>.
- Cyriac P.J., Antony, A. & Nambisan, P.N.K. (1989).** Hemoglobin and hematocrit values in the fish *Oreochromis mossambicus* (Peters) after short term exposure to copper and mercury. *The Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **43**, 315-320.
- Farsania, H.G., Doriab, H.B., Jamalic, H., Hasanpourc, S., Mehdipourd, N. & Rashidiyane, G. (2017).** The protective role of vitamin E on *Oreochromis niloticus* exposed to ZnONP *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **145**, 1-7.
- Ghazaly, K.S. (1992).** Hematological and physiological responses to sublethal concentrations of cadmium in a freshwater teleost, *Tilapia zillii*. *Water, Air, and Soil Pollution*, **64**, 551-559.
- Gluth, G. & Hanke, W. (1984).** A comparison of physiological changes in carp, *Cyprinus carpio*, induced by several pollutants at sublethal concentration II. The dependency on the temperature. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, **79**, 39-45.
- Gottschalk, F., Sun, T.Y. & Nowack, B. (2013).** Environmental concentrations of engineered nanomaterials: review of modeling and analytical studies. *Environmental Pollution*, **181**, 287-300.
- Handy, R.D., Kammer, F.V.D., Lead, J.R., Hassellóv, M., Owen, R. & Crane, M. (2008).** The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles. *Ecotoxicology*, **17**, 287-314.
- Hao, L. & 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.
- Heydarnejad, M.S., Khosravian-Hemami, M., Nematollahi, A. & Rahnama, S. (2013).** Effects of copper at sublethal concentrations on growth and biochemical parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Review of Hydrobiology*, **98**, 71-79.
- 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 zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **106**, 173-180.
- Kavitha, C., Malarvizhi, A., Senthil Kumaran, S. & Ramesh, M. (2010).** Toxicological effects of arsenate exposure on hematological, biochemical and liver transaminase activity in an Indian major carp, *Catla catla*. *Food and Chemical Toxicology*, **48**, 2848-2854.
- Klaine, S.J., Alvarez, P.J., Batley, G.E., Fernandes, T.F., Handy, R.D., Lyon, D.Y. & Lead, J.R. (2008).** Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **27**, 1825-1851.
- Lavanya, S., Ramesh, M., Kavitha, C. & Malarvizhi, A. (2011).** Hematological, biochemical and ionoregulatory responses of Indian major carp *Catla catla* during chronic sublethal exposure to inorganic arsenic. *Chemosphere*, **82**, 977-985.
- Lee, J., Kim, Ji., Shin, Yu., Ryu, Ji., Eom, Ig., Lee, J.S., Kim, Y., Kim, Pil., Choi, K. & Lee, B. (2014).** Serum and ultrastructure responses of common carp (*Cyprinus carpio* L.) during long-term exposure to zinc oxide nanoparticles. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **104**, 9-17.
- Lu, G.H., Chen, W. & Li, Y. (2011).** Effects of PAHs on biotransformation enzymatic activities in fish. *Chemical Research in Chinese Universities*, **27**, 413-416.
- Monteiro, S.M., Mancera, J.M., Fonta'inhas-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.
- Munoz, M.J., Carballo, M. & Tarazona, J.V. (1991)**. The effect of sublethal levels of copper and cyanide on some biochemical parameters of rainbow trout along subacute exposition. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, **100**(3), 577-582.
- Nolan, D.T., Spanings, F.A.T., Ruane, N.M., Hadderingh, R.H., Jenner, H.A. & Wendelaar Bonga, S.E. (2003)**. Exposure to water from the lower rhine induces a stress response in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **45**, 247-257.
- Öner, M., Atli, G. & Canli, M. (2008)**. Changes in serum parameters of freshwater fish *Oreochromis niloticus* following prolonged metal (Ag, Cd, Cr, Cu, Zn) exposures. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **2**, 360-366.
- Pottinger, T. (1998)**. Changes in blood cortisol, glucose and lactate in carp retained in anglers' keepnets. *Journal of Fish Biology*, **53**, 728-742.
- Ricard, A. C., Damel, C., Anderson, P. & Hontela, A. (1998)**. Effects of subchronic exposure to cadmium chloride on endocrine and metabolic functions in rainbow trout *Onchorynchus mykiss*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **34**, 377-381.
- Ruparelia, S.G., Verma, Y., Mehta, N.S. & Salyed, S.R. (1989)**. Lead-Induced biochemical changes in freshwater fish *Oreochromis mossambicus*. *The Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **43**, 310-314.
- Saravanan, M., Karthika, S., Malarvizhi, A. & Ramesh, M. (2011)**. Ecotoxicological impacts of clofibrac acid and diclofenac in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings: hematological, biochemical, ionoregulatory and enzymological responses. *Journal of Hazardous Materials*, **195**, 188-194.
- Sathya, V., Ramesh, M., Poopal, R.K. & Dinesh, B. (2012)**. Acute and sublethal effects in an Indian major carp *Cirrhinus mrigala* exposed to silver nitrate: gill Na/K-ATPase, plasma electrolytes and biochemical alterations. *Fish Shellfish Immunology*, **32**, 862-868.
- Scown, T.M., van Aerle, R. & Tyler, C.R. (2010a)**. Review: do engineered nanoparticle spose a significant threat to the aquatic environment. *Critical Reviews in Toxicology*, **40**, 653-670.
- Scown, T.M., Santos, E.M., Johnston, B.D., Gaiser, B., Baalousha, M., Mitov, S. & van Aerle, R. (2010b)**. Effects of aqueous exposure to silver nanoparticles of different sizes in rainbow trout. *Toxicological Sciences*, **115**, 521-534.
- Shaheen, T. & Akhtar, T. (2012)**. Assessment of chromium toxicity in *Cyprinus carpio* through hematological and biochemical blood markers. *Turkish Journal of Zoology*, **36**, 682-690.
- Thomas, P. (1990)**. *Molecular and biochemical responses of fish to stressors and their potential use in environmental monitoring*. In: Adams SM (ed) *Biological indicators of stress in fish*. American Fisheries Society, Bethesda, MD, pp 9-28.
- Toa, D.G., Afonso, L.O.B. & Iwana, G.K. (2004)**. Stress response of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to chemical cues released from stressed conspecifics. *Fish Physiology and Biochemistry*, **30**, 103-108.
- Vaseem, M., Umar, A. & Hahn, Y.B. (2010)**. ZnO Nanoparticles: Growth, Properties, and Applications. American Scientific Publishers, New York, pp. 1-36.
- Yang, J.L. & Chen, H.C. (2003)**. Effects of gallium on common carp (*Cyprinus carpio*): acute test, serum biochemistry, and erythrocyte morphology. *Chemosphere*, **53**, 877-882.
- 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.

## \*Corresponding author's:

**Ferit KARGIN**

Çukurova Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Sarıçam/Adana, Türkiye.

✉E-mail: fkargin@cu.edu.tr

ORCID : <https://orcid.org/0000-0003-4315-5689>

Telefon : +90 (322) 338 64 25 / 2440

Faks : +90 (322) 338 60 70