



**T.C.
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**AZADİRACHTİN PESTİSİTİNİN SAZAN BALIĞI (*Cyprinus
carpio* L. 1758)'NDA HORMONAL, HEMATOLOJİK,
ANTİOKSİDAN VE HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ**

DOKTORA TEZİ

Nuh KORKMAZ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. İbrahim ÖRÜN**

AKSARAY, 2018

AKSARAY ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ONAY BELGESİ

Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 132325601 numaralı Doktora öğrencisi, "Nuh KORKMAZ", ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "AZADİRACHTİN PESTİSİTİNİN SAZAN BALIĞI (*Cyprinus carpio* L. 1758)'NDA HORMONAL, HEMATOLOJİK, ANTİOKSİDAN VE HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ" başlıklı tezini, aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı:	Prof. Dr. İbrahim ÖRÜN	
	Aksaray Üniversitesi	
Jüri Üyeleri:	Prof. Dr. Sevket KANDEMİR	
	Amasya Üniversitesi	
Jüri Üyeleri:	Prof. Dr. Muhammet GAFFAROĞLU	
	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi	
Jüri Üyeleri:	Doç. Dr. Hüseyin POLAT	
	Aksaray Üniversitesi	
Jüri Üyeleri:	Doç. Dr. Arzu DOĞRU	
	Aksaray Üniversitesi	

Teslim Tarihi: 01 Haziran 2018

Savunma Tarihi: 28 Haziran 2018

ÖNSÖZ

Dünya nüfusunun hızlı artışı ile besin ihtiyacının karşılanması için yeni tarım alanlarının açılması artık doğal dengenin bozulması nedeniyle imkânsız hale gelmiştir. Son yıllarda birim alandaki ürün artışını sağlamak için kullanılan gübreleme ve sentetik pestisit kullanımının da olumsuz çevresel etkileri insanları yeni çözüm yolları aramayı zorunlu kılmıştır. Bilim insanlarının yeni çözümü ise bitkisel kökenli pestisitlerdir. Son yıllarda önemi giderek artan bitkisel kökenli pestisitlerden en dikkat çekici olanı ise *Azadirachta indica* ağacından elde edilen en aktif bileşiklerden biri olan AZA içeren NeemAzal-T/S pestisitidir. Bütün pestisitler gibi bu organik pestisitler de tarım alanlarından yakınındaki akuatik ortamlara geçebilmektedir. Üç tarafı denizlerle çevrili olan ve geçim kaynağını hem balıkçılıktan hem de tarım ürünlerinden sağlayan ülkemiz ve insanları için bu organik pestisit kullanımının akuatik sisteminin sakinleri üzerindeki etkileri de araştırılmaya değerdir. Sazan balığı *Cyprinus carpio* iç sularımızda bulunan en yaygın türlerden biridir. Ucuz olması ve protein değeri yüksek et kalitesinden dolayı tüketimi oldukça yaygındır. Balığın hormonal, hematolojik, antioksidan ve histopatolojik incelenmesinin yapılması hem akuatik sistemin sağlığı için hem de balık ile beslenen diğer canlılar ve insanlar için oldukça önemlidir. Çalışmamızda son yıllarda sentetik pestisitlerin yerine kullanımı giderek artan etkin bileşiği AZA olan NeemAzal-T/S pestisitinin farklı doz ve sürelerde iç sularımızın yaygın balığı olan *Cyprinus carpio* üzerindeki hormonal, hematolojik, antioksidan ve histopatolojik etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir.

Bu çalışma Amasya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü birimi tarafından FMB-BAP 15-0121 numaralı proje olarak 2015 yılında desteklenmiştir.

DOĞRULUK BEYANI

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmanın tamamını; akademik kurallara ve bilimsel araştırma etik değerlerine bağlı kalarak gerçekleştirdim ve sundum. Bu kurallar ve ilkelere aykırı hiçbir yol ve yardıma başvurmadan bizzat kendim hazırladım. Yararlandığım eserlerin kaynaklar dizininde gösterilenlerden oluştuğunu, çalışmamda kullandığım verilerin orijinallliğini ve her türlü intihalden uzak olduğunu beyan ederim.

Tezimle ilgili yaptığım beyana aykırı bir durumda ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı şimdiden kabul ederim.

Nuh KORKMAZ

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu araştırmanın ders, laboratuvar analizleri, tez yazım ve tezin uluslararası kongrelerde sunulmaları aşamasında yardımlarını esirgemeyen ve daima yanımda olan danışmanım Sayın Prof. Dr. İbrahim Örün'e,

Yine ders aşamasında ve laboratuvar analizleri aşamasında bilgi ve birikimlerinden çok şeyler öğrendiğim Sayın Doç. Dr. Hüseyin Polat, Doç. Dr. Mehmet İlker Doğru, Doç. Dr. Belda Erkmen, Doç. Dr. Arzu Doğru, Doç. Dr. Mehmet Karaca ve Dr. Kenan Erdoğan'a,

Ayrıca bu çalışmanın yapılması sürecinde manevi desteğini esirgemeyen eşim Hatice Korkmaz'a,

Tezimin gerçekleşmesinde FMB-BAP-15-0121 numaralı proje ile maddi destek sağlayan Amasya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne ve deneyde kullandığımız balıkları hibe eden Orman ve Su İşleri Bakanlığı DSİ 7. Bölge Müdürlüğü 73. Şube Müdürlüğü Yedikır Su Ürünleri İstasyonu birimine teşekkür ederim.

Nuh KORKMAZ

AKSARAY, 2018

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ.....	i
DOĞRULUK BEYANI.....	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÖZET.....	vi
ABSTRACT	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Pestisitler	1
1.2. Azadirachtin	4
1.3. <i>Cyprinus carpio</i> L. 1758	11
1.4. Pestisitlerin Balıklar Üzerinde Hormonal, Hematolojik, Antioksidan ve Histopatolojik Etkileri	14
2. LİTERATÜR ÖZETİ	26
3. MALZEME VE YÖNTEM	37
3.1. Malzeme	37
3.1.1. Araştırma birimi	37
3.1.2. Deneyde kullanılan hayvanlar	37
3.1.3. Etik kurul	38
3.1.4. Deney düzeneği	38
3.1.5. Akvaryum sistemi	38
3.1.6. NeemAzal-T/S	40
3.1.7. Azadirachtin'in uygulama şekli	40
3.1.8. Kan ve klinik materyallerin alınması	41
3.2. Yöntem	41
3.2.1. Hormon analizi	41
3.2.2. Hematolojik ve biyokimyasal analiz	41
3.2.3. Antioksidan özelliklerinin incelenmesi	41
3.2.4. Histopatolojik inceleme	42
3.2.5. İstatistiksel analiz	45
4. BULGULAR	46
4.1. Hormonal Parametreler	46
4.1.1. Serum büyüme hormonu (BH) düzeyleri	46
4.1.2. Serum insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) düzeyleri	47
4.1.3. Serum tiroid uyarıcı hormon (TSH) düzeyleri	48
4.1.4. Serum serbest triiyodotronin (ST ₃ =FT ₃) hormon düzeyleri	50
4.1.5. Serum serbest tiroksin (ST ₄ =FT ₄) hormonu düzeyleri	51
4.1.6. Serum toplam triiyodotronin (TT ₃) hormonu düzeyleri	52
4.1.7. Serum toplam tiroksin (TT ₄) hormonu düzeyleri	53

	<u>Sayfa</u>
4.1.8. Serum adrenokortikotropik hormonu (ACTH) düzeyleri	54
4.1.9. Serum kortizol hormonu düzeyleri	56
4.1.10. Serum tümör nekroz faktör- α (TNF- α) düzeyleri	57
4.1.11. Serum interlökin-1beta (IL-1 β) düzeyleri	58
4.1.12. Serum interlökin-6 (IL-6) düzeyleri	59
4.2. Hematolojik parametreler.....	61
4.3. Antioksidan Parametreler.....	62
4.3.1. Malondialdehit (MDA) düzeyleri	62
4.3.2. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivite düzeyleri.....	63
4.3.3. Katalaz (CAT) enzim aktivite düzeyleri	64
4.3.3. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktivite düzeyleri	65
4.4. Histopatolojik Sonuçlar.....	67
4.4.1. Solungaç histopatoloji sonuçları	67
4.4.2. Karaciğer histopatoloji sonuçları	68
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	70
6. ÖNERİLER	82
7. KAYNAKLAR	83
ÖZGEÇMİŞ.....	104
Tezden Üretilen Yayınlar, Sunumlar Ve Patentler	104
Makale.....	105
Uluslararası Kongre ve Sempozyum Sunumları	105

DOKTORA TEZİ

Nuh KORKMAZ

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İbrahim ÖRÜN

ÖZET

AZADİRACHTİN PESTİSİTİNİN SAZAN BALIĞI (*Cyprinus carpio* L. 1758)'NDA HORMONAL, HEMATOLOJİK, ANTİOKSİDAN VE HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ

Bu çalışmada azadirachtin'in ticari formlarından biri olan Neemazal-T/S'nin (10g/L AZA) farklı doz (1,20 ppm ve 2,40 ppm) ve süreye (4 gün ve 30 gün) bağlı olarak *Cyprinus carpio*'daki hormonal, hematolojik, antioksidan ve histopatolojik etkileri incelenmiştir.

Çalışmamızda hormonal parametreler değerlendirildiğinde; kontrol grubuna göre serum BH, IGF-1, TT₃ ve TT₄ düzeylerinde meydana gelen azalma ile TSH, ST₃, ST₄, ACTH, kortizol, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeylerinde meydana gelen artışlar hem akut hem de subkronik sürede doza bağlı olarak istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Süreler arası karşılaştırmada ise her iki doz grubunda akut ve subkronik sürelerde serum TSH, ST₃, ACTH, kortizol, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeylerinde istatistiksel olarak artış anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Ancak süreler arası karşılaştırmada 2,40 ppm doz grubunda akut ve subkronik sürelerde serum ST₄ düzeylerinde istatistiksel olarak artış anlamlı bulunmasına rağmen ($p<0,05$) serum TT₃ ve TT₄ düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$). BH ve IGF-1 düzeylerinin süreler arası karşılaştırılmasında ise akut ve subkronik sürelerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,05$). Hematolojik parametrelerin analizinde elde edilen bulgulara göre WBC, granülosit sayısı, Hct, Hb, MCV ve MCH değerleri, sadece AZA 2,40 ppm grubunda istatistiksel olarak azalmıştı. MCHC ve monosit oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Süreye bağlı karşılaştırmalar ise WBC, lenfosit ve granülosit oranları subkronik dönemde ve sadece 2,40 ppm doz grubunda istatistiksel olarak anlamlı iken Hb konsantrasyonu ve Hct değerleri, 2,40 ppm doz grubunda istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Antioksidan parametrelerin değerlendirilmesinde, solungaç ve karaciğer dokularında MDA düzeylerindeki artış; SOD, CAT ve GSH-Px enzim aktivitelerinde ise azalma her iki doz grubunda da kontrol grubuna göre anlamlı bulunmuştur. Süreye bağlı olarak karaciğer ve solungaç dokularında subkronik dönemde MDA düzeyindeki artış istatistiksel olarak anlamlı iken SOD, CAT ve GSH-Px enzim aktivitelerindeki azalmalar istatistiksel olarak anlamlıdır. Solungaç dokusu histopatolojisinde subkronik dönemde epitellerde ayrılma, sekonder epitel lamelde düzleşme ve kısalma doza bağlı olarak artmıştır. Subkronik dönemde karaciğer histopatolojisinden elde edilen bulgular, sinüzoidal boşlukta vakuolar dejenerasyon, mononükleer infiltrasyon ve hidropik dejenerasyondur.

NeemAzal-T/S organik bir insektisit olan azadirachtin içermesine rağmen, *Cyprinus carpio*'da hormonal parametreler, hematolojik parametreler, antioksidan enzim sistemi, solungaç ve karaciğer histopatolojisi üzerine doz ve süreye bağlı olarak toksikolojik etkiye sahiptir.

Anahtar Kelimeler: Azadirachtin, *Cyprinus carpio*, Hematolojik parametreler, Hormonal parametreler, Antioksidan parametreler, Histopatoloji

Haziran, 2018; 103 sayfa

Ph.D. THESIS

Nuh KORKMAZ

**Aksaray University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology**

Supervisor: Prof. Dr. İbrahim ÖRÜN

ABSTRACT

**HORMONAL, HEMATOLOGICAL, ANTIOXIDANT AND HISTOPATHOLOGICAL
EFFECTS OF AZADIRACTIN PESTICIDE ON CARP (*Cyprinus carpio* L. 1758)**

In this study, the effects of different doses (1,20 ppm and 2,40 ppm) and duration (4 days and 30 days) of Neemazal-T/S (10 g/L AZA) on *Cyprinus carpio* hormonal, hematological, antioxidant and histopathological effects were investigated.

When the hormonal parameters are evaluated in our study; ST₃, ST₄, ACTH, cortisol, TNF- α , IL-1 β and IL-6 levels and the decrease in serum GH, IGF-1, TT₃ and TT₄ levels according to the control group, were statistically significant ($p < 0,05$). In serum TSH, ST₃, ACTH, cortisol, TNF- α , IL-1 β and IL-6 levels were found to be statistically significant increases in acute and subchronic periods in both dose groups ($p < 0,05$). Although there was a statistically significant increase in serum ST₄ levels during acute and subchronic periods in the 2,40 ppm dose group ($p < 0,05$), there was no statistically significant difference in the levels of serum TT₃ and TT₄ ($p > 0,05$). There was a statistically significant difference between acute and subchronic durations of GH and IGF-1 levels ($p < 0,05$). According to the findings obtained from the analysis of hematological parameters, WBC, granulocyte count, Hct, Hb, MCV and MCH values were statistically decreased only in the group of AZA 2,40 ppm. There was no statistically significant difference between MCHC and monocyte ratios ($p > 0,05$). While the WBC, lymphocyte and granulocyte ratios were statistically significant in the subchronic and only 2,40 ppm dose groups, Hb concentration and Hct values were statistically significant in the 2,40 ppm dose group ($p < 0,05$). In the evaluation of antioxidant parameters MDA levels and decrease in SOD, CAT and GSH-Px enzyme activities in gill and liver tissues were found to be significant in both dose groups compared to the control group. While the increase in MDA level in the subchronic stage in the liver and gill tissues was statistically significant, the decreases in SOD, CAT and GSH-Px enzyme activities were statistically significant. In the gill tissue histopathology, epithelial detachment in the subchronic period, flattening and shortening in the secondary epithelial lamella increased due to dosage. Findings from liver histopathology in subchronic period, vacuolar degeneration in sinusoidal space, mononuclear infiltration and hydropic degeneration.

Although NeemAzal-T/S contains azadirachtin, an organic insecticide, it has toxicological effects on carp fish hormonal parameters, hematological parameters, antioxidant enzyme system, gill and liver histopathology, depending on dose and duration.

Key words: Azadirachtin, *Cyprinus carpio*, Hematological parameters, Hormonal parameters, Antioxidant parameters, Histopathology

June, 2018; 103 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. <i>Azadirachta indica</i> (neem ağacı) (Özger vd., 2013).....	5
Şekil 1.2. AZA-A kimyasal formülasyonu (URL-1).	8
Şekil 1.3. Neem ürünlerinin kullanım alanları (Özger vd.,2013).	9
Şekil 1.4. <i>Cyprinus carpio</i> (URL-2).	14
Şekil 1.5. Balıkların BH-IGF-I sisteminin şematik diyagramı (Reinecke, 2010).....	17
Şekil 1.6. Hipotalamus-hipofiz-tiroid fizyolojisi (Mortimer, 2011).....	18
Şekil 1.7. Omurgalılarda hipotalamus-hipofiz-adrenal korteks aksı (URL-3).	20
Şekil 1.8. İnterlökün sentez mekanizması (Yücel, 2004).	21
Şekil 1.9. SOD enzim aktivitesi.	24
Şekil 1.10. CAT enzim aktivitesi.	25
Şekil 1.11. GSH-Px enzim aktivitesi.	25
Şekil 3.1. Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi.....	37
Şekil 3.2. Akvaryum Sistemi (Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Merkezi Araştırma Laboratuvarı).	39
Şekil 3.3. Leica TP1020 model doku takip cihazı.	42
Şekil 3.4. Leica EG1160 model doku bloklayıcı cihazı.....	43
Şekil 3.5. Leica RM 2125RTS model döner mikrotom.	44
Şekil 3.6. Leica DM3000 model ışık mikroskobu	45
Şekil 4.1. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum BH düzeyleri.....	47
Şekil 4.2. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum IGF-1 düzeyleri.....	48
Şekil 4.3. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum TSH düzeyleri.....	49
Şekil 4.4. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum ST ₃ düzeyleri.	51
Şekil 4.5. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum ST ₄ düzeyleri.	52
Şekil 4.6. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum TT ₃ hormonu düzeyleri.....	53
Şekil 4.7. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum TT ₄ hormonu düzeyleri.....	54
Şekil 4.8. Farklı dozlarda (1.2 ve 2.4 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum ACTH düzeyleri.	55
Şekil 4.9. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum kortizol düzeyleri.....	57
Şekil 4.10. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum TNF- α düzeyleri.	58
Şekil 4.11. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum IL-1 β düzeyleri.	59

Sayfa

Şekil 4.12. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum IL-6 düzeyleri.	60
Şekil 4.13. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> MDA düzeyleri (nmol/mL).	63
Şekil 4.14. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> SOD enzim aktivite düzeyleri (U/mg protein).	64
Şekil 4.15. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> CAT enzim aktivite düzeyleri (U/mg protein).	65
Şekil 4.16. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> GSH-Px enzim aktivite düzeyleri (U/mg protein).	66
Şekil 4.17. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> solungaç dokularında görülen histopatolojik etkiler (A- Sekonder lamellerde epitel ayrılması, B- Sekonder lamellerde düzleşme C- Sekonder lamellerde kısılma) HE 200X.	68
Şekil 4.18. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> karaciğer dokularında görülen histopatolojik etkiler (A- Vakuoler dejenerasyon, B- Mononükleer hücre infiltrasyonu, C- Sünizoidal mesafede hidropik dejenerasyon) HE 200X.	69

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1. Deney Düzenegi.....	38
Çizelge 3.2. Deneyde Kullanılan Suyun Kalite Kriterleri.	40
Çizelge 4.1. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum BH düzeyleri.....	46
Çizelge 4.2. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum IGF-1 düzeyleri.....	48
Çizelge 4.3. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum TSH düzeyleri.....	49
Çizelge 4.4. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum ST ₃ düzeyleri.	50
Çizelge 4.5. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum ST ₄ düzeyleri.	52
Çizelge 4.6. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> TT ₃ düzeyleri.....	53
Çizelge 4.7. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum TT ₄ düzeyleri.	54
Çizelge 4.8. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum ACTH düzeyleri.	55
Çizelge 4.9. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum kortizol düzeyleri.....	56
Çizelge 4.10. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum TNF- α düzeyleri.	58
Çizelge 4.11. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum IL-1 β düzeyleri.	59
Çizelge 4.12. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> serum IL-6 düzeyleri.	60
Çizelge 4.13. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> hematolojik parametreler.....	62
Çizelge 4.14. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> MDA düzeyleri (nmol/mL).	63
Çizelge 4.15. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> SOD enzim aktivite düzeyleri (U/mg protein).	64
Çizelge 4.16. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> CAT enzim aktivite düzeyleri (U/mg protein).	65
Çizelge 4.17. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> GSH-Px enzim aktivite düzeyleri (U/mg protein).	66

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

AZA	Azadirachtin
CAT	Katalaz
CRH	Kortikotropin salgılatıcı hormon
GH-BH	Büyüme hormonu
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
Hb	Hemoglobin
Hct	Hematokrit
HPT	Hipotalamus-hipofiz-tiroid
IGF-1	İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
IL-1β	İnterlökin 1 beta
IL-6	İnterlökin 6
MCH	Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin
MCHC	Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu
MCV	Ortalama eritrosit hacmi
MDA	Malondialdehit
PLT	Trombosit sayısı
RBC	Alyuvar
SOD	Süperoksit dismutaz
ST₃	Serbest triiyodotronin
ST₄	Serbest tiroksin
T₃	Triiyodotronin
T₄	Tiroksin
TH	Tiroid hormonları
TNF-α	Tümör nekroz faktör alfa
TRH	Tirotropin salgılatıcı hormon
TSH	Tiroid uyarıcı (stimule) hormonu
TT₃	Toplam triiyodotronin
TT₄	Toplam tiroksin
WBC	Akyuvar
α	alfa
β	beta

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun hızlı artışı ile birlikte besine duyulan ihtiyaç ve rekabet de artmaktadır. Günümüzde tarım alanlarının genişleme imkânının olmaması nedeniyle ürün artışını sağlamak için birim alanda alınan ürün miktarının yükseltilmesi çalışmaları yapılmaktadır (Başpınar vd., 2010). Birim alanda tarımsal üretimin artırılması için yapılan bu çalışmaların başında gübreleme ve pestisit kullanımı gelmektedir. Üretimin artırılmasında pestisitlerin katkısı inkâr edilemez. Pestisitler tarım alanında kullanılan başlıca zararlılardan kurtulmak ve ürün artışını sağlamak için doğrudan kullanılan kimyasallardır (Tiryaki vd., 2010). Ayrıca pestisitler balık hastalıkları, parazitler ve diğer böcekleri kontrol etmek için akuatik sistemlerde de kullanılabilmektedir (Davoodi, 2012). Günümüzde en çok kullanılan pestisitler sentetik pestisitlerdir. Çünkü sentetik pestisitlerin ekonomik, kontrol yönteminin güvenilir, gerektiği yerde ve zamanında kullanılabilmek olması bu pestisitlerin üretimi ve tüketiminin son yıllarda büyük ölçüde artmasına neden olmuştur (Ansari ve Kumar, 1988). Pestisitler, üretimi artırmak için önemli bir role sahiptirler ancak doğrudan kullanımı, aşırı püskürtme, sürüklenme, hava yoluyla taşınma, tarımsal alandan ve konutlardan akışı, bireysel kullanımının yanlışlığı ve uygun olmayan elden çıkarma nedeniyle göletler, nehirler ve dereler gibi akuatik ortamlarda değişen konsantrasyonlarda yaygın olarak bulunurlar (McConnell vd., 1998; LeNoir vd., 1999).

1.1. Pestisitler

Kirlilik ekoloji biliminin ilgisini çeken en büyük sorunlardan biridir. Çevresel kirleticilerin çoğu farklı akuatik hayvanları, toksik maddenin özelliği ve konsantrasyonuna bağlı olarak, belli ölçüde etkiler. Akuatik ortamda yaşayan kabuklular, yumuşakçalar veya balıkların çevresel kirleticilere maruz kalması, organizmada birikimi ve bunların insanlar tarafından besin kaynağı kullanılmasında

dolayı bilim adamları tarafından ciddiye alınması gereken bir durumdur. Bu kirleticilerin en önemlilerinden biri de pestisitlerdir.

Pestisitler böcekler, bitki patojenleri, yabancı otlar, yumuşakçalar, kuşlar, memeliler, balıklar, nematodlar ve mikroorganizmalar gibi zararlı biyolojik organizmaları engellemek, onları kontrol altına almak ya da zararlarını azaltmak amacıyla kullanılan, insan ve hayvanların besin kaynaklarına, yaşadığı ekosisteme zarar veren kimyasal maddelerdir. Uzun süre çevrede kalabilen pestisitler, mutajen, teratojen ve kanserojen olabilirler. Pestisitler diğer toksik materyallerden kimyasal ve sosyal olarak ayrı bir sınıfta tutulur. Çünkü pestisitlerin toksik etkisi doğrudan belirli bir organizmayı değil hedef olmayan organizmaları da etkileyebilmektedirler (Alak vd., 2013). Amacına uygun bir şekilde, gerekli doz ve sürelerde uygulandığında faydası küçümsenmeyecek kadar çok olan bu kimyasalların bilinçsiz ve fazla kullanımları sonucunda hedef olmayan organizmalar etkilenirken toprak ve akuatik sistemler kirlenmektedir. Pestisitler yüzey akıntıları, buharlaşma, drenaj, topraktan sızma ve yeraltı suları ile bir ekosistemden diğer ekosisteme geçerler. Bu kimyasalların akuatik ekosistemlere geçişi, su kaynaklarına doğrudan uygulamalar, sprey uygulamaları sonucu yayılım veya yer altı sularına karışma yoluyla olmakta ve bu ortamdaki canlı yaşamını tehdit edebilmektedir.

Pestisitler; görünüşlerine, fiziksel yapılarına, formülasyon şekillerine, etkiledikleri zararlı ve hastalık grupları ile bunların biyolojik dönemine, içerdikleri aktif maddenin cins ve grubuna, zehirlilik derecesine ve kullanım tekniğine göre çok değişik şekillerde sınıflandırılabilir.

Etkili oldukları canlı gruplarına göre pestistler:

- a) İnsektisitler: Böcek öldürücüler (karıncalar, böcekler vb.),
- b) Herbisitler: Ot öldürücüler (bitkiler, yabancı otlar, yosunlar),
- c) Fungisitler: Mantar öldürücüler,
- d) Rodentisitler: Fare öldürücüler ve kemirici öldürücüler,
- e) Nematositler: Nematod öldürücüler,
- f) Mollusitler: Yumuşakça öldürücüler,
- g) Algisitler: Alg öldürücüler,
- h) Akarisitlerdir: Akar öldürücüler (Keneler, halı böcekleri, toz böcekleri, vb.).

Bileşimindeki etkili madde grubuna göre pestisitler:

- a) İnorganik pestisitler (arsenikli pestisitler, civalı pestisitler, flörürlü pestisitler ve bakırlı pestisitler),
- b) Sentetik organik pestisitler (organoklorürler, organofosfatlar, organosülfürler ve karbamatlar)
- c) Doğal organik pestisitlerdir (rotenonlar, piretroitler ve nikotin).

Pestisitlerin büyük bir kısmı organik moleküler yapıdadır ve hidrofobik özelliktedir. Bu özellikleri nedeniyle su yüzeyindeki partiküllere bağlanarak akuatik ortamların bentik kısmında bulunan sediment tabakasında birikirler.

Akuatik sistemlerde ve tarımsal üretimin artışında katkısı inkâr edilemeyen sentetik pestisitler görülmemiş ekolojik hasara da neden olmuştur (Ansari ve Kumar, 1988). Bu nedenle pestisitler her zaman kullanışlı ve yararlı değildir. Tarımsal alanlardan akuatik ortamlara akan bu pestisitlerin varlığı balıklar ve diğer akuatik canlılar gibi hedef olmayan türlerde de büyük hasarlara neden olur (Rohr ve Crumrine, 2005; Lipika ve Patra, 2006; Rohr vd., 2008; Tang vd., 2012). Bu pestisitler hayvanların vücutlarında yüksek düzeylerde birikir ve daha sonra homeostasisini etkileyerek performansını bozar (Barton ve Iwama, 1991; Wendelaar Bonga, 1997). Zirai mücadele alanında görülen zararlılar ile mücadelede II. Dünya Savaşı'ndan sonra hızla artan kimyasal ilaçların kullanımının olumsuz etkileri olmuştur. Bu olumsuz etkiler, zararlıların bu maddelere karşı dayanıklılık geliştirmesi, ana zararlılar ve ikincil zararlıların epidemi yapması ve genel olarak çevreyi kirletmesi gibi birçok olumsuz durumu içerir. Bu olumsuzlukların meydana gelmesi ile sentetik kimyasal kullanımından kaynaklanan çevre sorunlarını en aza indirmek için haşere kontrolünün alternatif yöntemlerinin aranması zorunlu hale gelmiştir (Wan vd., 1996; Kumar vd., 2012; Erdoğan, 2013). Bu konuda yapılan araştırmalar bitkiler üzerinde yoğunlaşmıştır. Bitkilerden elde edilen bazı maddeler zararlılar ile mücadelede eski zamanlardan beri kullanılmaktadır (Secoy ve Smith, 1983) Biyodegradasyonu, kısa süreli kalması, hedef olmayan organizmalara en az toksik olması, ekonomik ve kolay kullanılabilirliğinden dolayı bitkisel ürünlerin popülaritesi gün gün artmaktadır. Bugün böcek öldürücü aktiviteye sahip yaklaşık 200 bitki bilinmektedir (Singh vd., 2001). Bu konuda en çok çalışma yapılan bitki *Azadirachta indica* (neem ağacı= tesbih ağacı)'dır.

1.2. Azadirachtin

Günümüzde pestisitler özellikle tarımda bitki zararlarına karşı herbisit, böcek zararlılarına karşı insektisit olarak yaygın biçimde kullanılmaktadır. Gerektiği yerde ve zamanda kullanılabilir olması, ekonomik ve en önemlisi kontrol yönteminin güvenilirliği sentetik insektisitlerin yaygın olarak kullanılmasının başlıca nedenlerindendir. Buna bağlı olarak pestisit üretimi ve tüketimi son yıllarda büyük ölçüde artmıştır. Tarımsal üretimin artışında pestisit katkısı inkâr edilemez fakat sentetik pestisitler önemli ekolojik hasarlara neden olmuştur. Ayrıca formülasyon, üretim ve uygulama alanlarında işçilerde de ciddi sağlık tehlikesi oluşturmaktadır (Ansari ve Kumar, 1988). Sentetik zehirli kimyasalların sorunların üstesinden gelmek için en iyi kontrol tedbirlerinden biri de bitki kökenli ürünlerin kullanılmasıdır. Söz konusu doğal ürünler arasında en umut vericisi doğal bir bileşik olan AZA, *Azadirachta indica* A. Juss (neem)'dan çıkarılan bir aktif bileşik olup; antiviral, antifungal, antibakteriyel ve böcek öldürücü özellikleri birkaç yıldır bilinmektedir (Harikrishnan vd., 2003). AZA, yaklaşık 550 böcek türünde aktiftir (Anuradha ve Annadurai, 2008).

Azadirachta indica A. Juss 2000 yıldan fazladır Hindistan'da ve komşu ülkelerde bilinen ve kullanılan geniş bir biyolojik aktiviteye sahip belki de en yararlı geleneksel, çok yönlü bir tıbbi bitkidir. *Azadirachta indica* Hint neem (tesbih ağacı) ağacı olarak bilinir. Neem Hint Yarımadası'nın çeşitli yerlerinde yetiştirilen yaprak dökmeyen bir ağaçtır (Şekil 1.1.). Ağacın tüm organları geleneksel olarak evlerde insanların çeşitli rahatsızlıklarına karşı çare olarak Antik Çağ'dan beri kullanılmaktadır (Biswas vd., 2002). Neem yoğun olarak ayurveda, unani ve homeopatik tıpta kullanılmıştır ve günümüzde modern tıbbın ilgi odağı haline gelmiştir. Neem ağacı Sanskritçe'de "hastalık kesici" yani "arishtha" olarak adlandırılır. Ağaç halen Hindistan'da "köy dispenseri" olarak kabul edilir. Neem ağacının önemi 1992'de ABD Ulusal Bilimler Akademisi tarafından yayınlanan "Neem-küresel Sorunların Çözümü İçin Bir Ağaç" başlıklı bir rapor ile kabul edilmiştir. Neem araştırma gelişmesi erken belgelenmiştir (Singh vd., 1996; De Jussieu, 1830). Neem ağacının her bölümü tıbbi bir özelliğe sahiptir ve ticari olarak kullanılmaktadır. Son beş yıl boyunca ayrı neem bileşiklerinin kimyası, biyolojik aktivite ve neem ilaç uygulamaları ile ilgili kayda değer ilerleme elde edilmiştir.

Şimdi çeşitli hastalıklara karşı ilaçların ve sanayi ürünlerinin geliştirilmesi için benzersiz bir doğal ürünün önemli bir kaynağı olarak kabul edilmektedir.



Şekil 1.1. *Azadirachta indica* (neem ağacı) (Özger vd., 2013).

Neem ağacı De Jussieu (1830) tarafından '*Azadirachta indica*' olarak 1830 gibi erken bir tarihte tarif edilmiştir ve taksonomik konumu aşağıdaki gibidir:

Takım : Rutales

Alttakım : Rutinae

Familya : Meliaceae

Altfamilya : Melioideae

Cins : *Azadirachta*

Tür : *Azadirachta indica*

Azadirachta indica doğal pestisit olarak kullanılan diğer ticari bitkilerin çoğundan fazla bazı belirgin avantajları vardır. İlk kez yetiştirilmiş ve dikkatli ekim gerektiren pyrethrumların aksine çok yıllık bir bitkidir (perennial). Bu ağaçlar genellikle Asya'nın tropikal ve subtropikal bölgelerinde yetişmektedir özellikle Hindistan'da neredeyse ülke genelinde yetişmekte fakat günümüzde iklimsel toleransı nedeniyle dünyanın önemli diğer sıcak bölgelerinde de yetiştirilmektedir. Bu ağaçlar 0 °C ile 45 °C arasında ve deniz seviyesi ile deniz seviyesinden 1500 m yükseklik arasında uyum sağlamıştır. Hayatta kalmak için 450 mm minimum yağış gerektirir. Bu bitki, derinliği 1,50-2,00 m ve pH 8,5'e kadar olan sert topraklarda iyi yetişebilen birkaç tür arasında yer alır. Dallarının büyümesiyle taç çapı 10 m'ye kadar ulaşabilen, yapraklarını dökmeyen, 30 m uzunluğa ve 2,5 m çapa kadar büyüeyebilen bir ağaçtır (Şekil 1.1.). Kökleri toprağın derinlerine kadar inen ağaç çok çabuk büyür, az bakım ister ve fakir toprakta yetişebilir. Bu ağaçlar 3 yılda 7 m uzunluğa erişebilir; ilk meyvelerini 3-5. yıllarında verir ve bu ağaçların ortalama 150-200 yıl yaşadığı bilinmektedir (Özger vd., 2013).

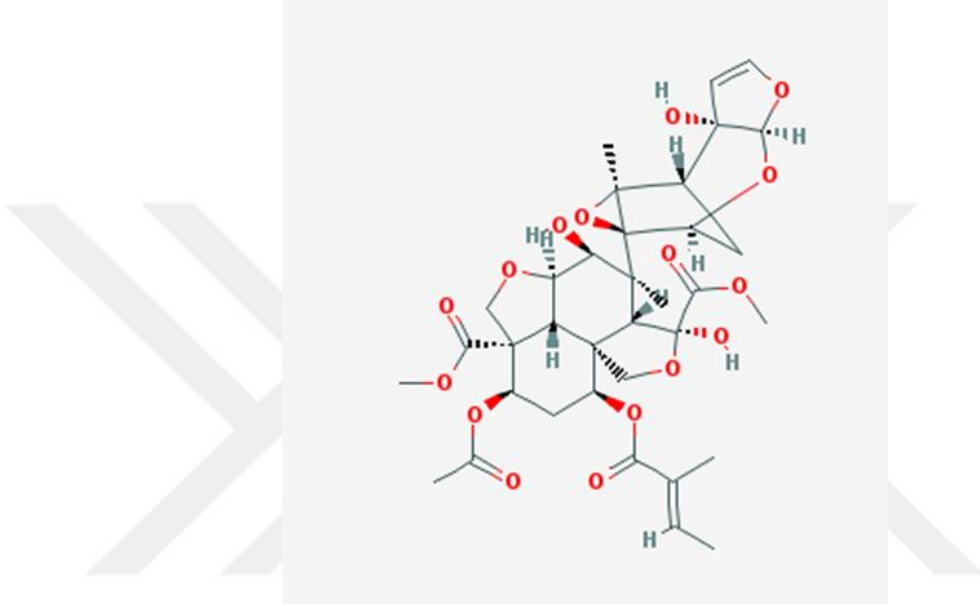
Salako (2002) *Azadirachta indica* kullanımının nispeten ucuz ve kolay kullanılabilir olması, böceklerin yaşam döngüsünün ve fizyolojisinin değişik kısımlarına etki ettiği için haşerenin direnç geliştirmesini zorlaştıran aktif kompleks maddeler içermesi ve sistemik olması gibi belirgin avantajlarının olduğunu belirtmektedir. *Azadirachta indica* böcek öldürücü geniş bir spektrum göstermektedir. Khalid ve Shad, (2002)

özellikle AZA'nın toksik etkisinin 14-21 gün içinde kaybolduğunu bildirmişlerdir. Başka bir literatürde AZA'nın çevre koşulları altında bir haftadan az bir süre stabil kaldığı rapor edilmiştir (Sundaram, 1996). Scott ve Kaushik, (2000) ise güneş ışığına maruz kalan suda AZA'nın yarı ömrünü 36-48 saat olarak bildirmişlerdir.

Hindistan'da, *Azadirachta indica* bileşenlerinin izolasyon ve tespiti üzerine öncü çalışmalar 1942 yılında başlatılmıştır ve dünyanın çeşitli yerlerinde devam etmiştir. Yaprakların, ham fiber (11-24%), karbonhidrat (48-58%), ham protein (14-18%), yağ (2,3-6,9%), kül (7,7-8,5%), kalsiyum (0,8-2,4%), fosfor (0,13-0,24%) ve bir dizi amino asitler içerdiği gösterilmiştir. Son zamanlarda, iki boyutlu bir ince tabaka kromatografisi (TLC) yöntemiyle *Azadirachta indica* yapraklarında karotenoidler ve diğer bileşenlerin varlığı ortaya çıkarılmıştır. AZA yağı yağ asitlerince zengin ve katılaşmış kısmı (tortu) diğer yağ tortularında olduğu gibi yüksek kükürt içermektedir. *Azadirachta indica* reçinesinde ve kabuğunda bir dizi şeker ve polisakkaritler tanımlanmıştır. Bu genel bileşen türlerine ek olarak ağacın birçok kısmında bir dizi yeni bileşikler izole edilmiştir (Fulekar, 2005).

Azadirachta indica ağacının tüm parçaları böcek öldürücü etkiye sahiptir ancak en etkili kısım tohum çekirdeğidir. "Triterpen" olarak adlandırılan daha spesifik olarak "limnoids" olarak adlandırılan birçok haşere öldürücü aktif madde içerir. En iyi dört limnoid'ler: AZA, Salannin, Meliantriol ve Nimbin. AZA ($C_{35}H_{44}O_{16}$) kendisi AZA A, B, C, D, E, F, G vb. gibi bir bileşik grubudur. Bunlar arasında AZA-A (Aza A) en çok bulunan organik bir maddedir (Şekil 1.2.) ve biyolojik olarak birçok böcek için böceksavar, beslenmeyi engelleyici, insektisidal etkinliği olan ve ticari insektisit olarak kullanılan bir bileşiktir (Barceloux, 2008). AZA'nın bu zararlılar üzerindeki uzaklaştırıcı, yumurta bırakmayı önleyici, beslenme engelleyici, gelişme engelleyici, sağlıklı birey oluşturma gibi olumsuz etki mekanizmaları vardır. Beslenmeyi engelleyici etkisi tat alma reseptörlerinin uyarılmasını engeller, uyarılan reseptörlerde olumsuz tepki ortaya çıkar ve beslenme durur. Sonuçta böcek larvaları sindirim sistemlerindeki biyokimyasal değişiklik ve açlık nedeniyle ölürler. Ayrıca kemoresöptörler üzerindeki etkileri, morfogenetik peptid hormonu salınımının bloke edilmesi ile ecdysteroid ve juvenile hormon titreleri üzerine etkileri ve diğer dokular üzerinde böceğin genel hareket kaybına neden olan etkileri vardır (Mordue ve Blackwell, 1993; Girish ve Shankara, 2008). Ayrıca AZA'nın antiviral,

antibakteriyel ve antifungal özellikleri birkaç yıldır bilinmektedir. Bunların yanında akuakültür sistemlerinde balık yırtıcılarını kontrol etmek için başarılı bir şekilde kullanılmıştır (Dunkel ve Richards, 1998). Hedef olmayan organizmalar için toksik bulunmasının yanında deney hayvanlarında önemli değişiklikleri indüklemektedir (Mahboob vd., 1998; Mondal vd., 2007).



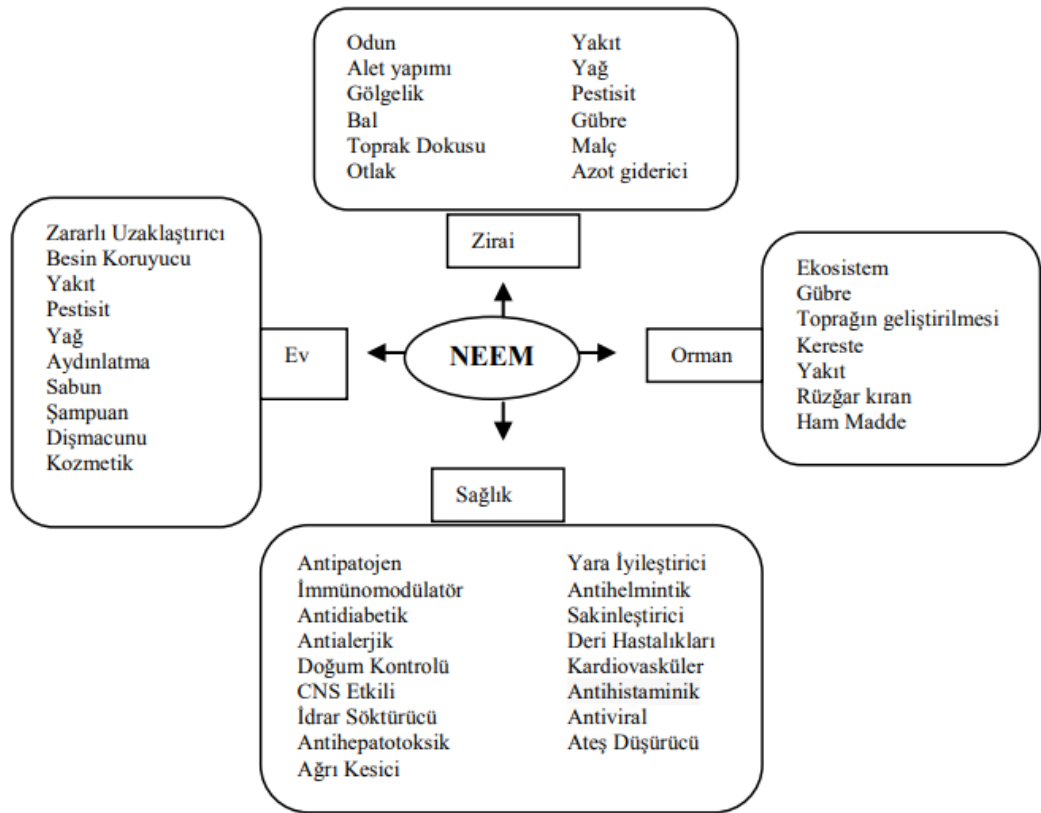
Şekil 1.2. AZA-A kimyasal formülasyonu (URL-1).

Azadirachta indica Hindistan’da pirinç, buğday, mısır, darı, bakliyat ve patates ekim alanlarında zararlılara karşı kullanılmaktadır. Ayrıca *Azadirachta indica* depolanmış bu ürünlerin saklanması da zararlılara karşı etkin olarak kullanılmaktadır.

Azadirachta indica ürünleri diğer tarımsal ilaçlara alternatif olarak ucuz, hazırlanması kolay, çevre dostu ve düşük maliyetlidir. *Azadirachta indica* potansiyeli Güney ve Güneydoğu Asya çiftçileri tarafından henüz kullanılmamaktadır. *Azadirachta indica*’nın ürün korumasındaki rolü hakkında bilinenin az olması bu sebeplerden bir tanesidir (Debashri ve Tamal, 2012).

AZA'dan ticari olarak yararlanılabilir (Biswas vd., 2002; Das vd., 2002) ve AZA geleneksel olarak birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır (Van Der Nat vd., 1991). Dünya çapında Margosan-O, Bio-neem, Azatin, Neemies, Sa-fer's ENI, Wellgro, RDRepelin, Neemguard, Neemark ve Neemazal olmak üzere 100'ün üzerinde ticari neem formülasyonları vardır. Neem türevleri zararlılara karşı yaprak, yağ, özüt, neem yağı gibi formülasyonları olarak uygulanmıştır (Khater, 2012).

Neem ürünleri ve kullanım alanları çok geniştir ve şekil 1.3'te gösterilmektedir.



Şekil 1.3. Neem ürünlerinin kullanım alanları (Özger vd.,2013).

Neem ağacının bütün kısımları değişik amaçlarla kullanılmaktadır. Neem tohumları oval, pürüzsüz, yaklaşık 2 cm uzunluğundadır ve genellikle tohum taslağı 2-3 adet tohum içerir. Bu tohumlar neem yağı ve neem küspesi elde etmede kullanılır. Yaklaşık 40 farklı bileşene sahip olan bitki yağının büyük bir kısmı tohumlarda bulunur. Preslenme yöntemiyle elde edilen yağ başka yöntemlerle elde edilen yağlardan daha değerlidir. Sağlık alanında ağrı kesici, ateş düşürücü, antikolinerjik,

antihelmintik, antihistaminik, antiviral olarak kullanılan neem yağı teknik alanda ise kozmetik alanında, saç bakım ürünlerinde, şampuan, diş macunu, sabun imalatında ve uzay gemilerinin yakıtı olarak kullanılır. Ayrıca neem yağı bakterisit, fungusit ve geniş spektrumlu bir insektisit olarak kullanılır. Bu bitkilerden elde edilen küspe değerli doğal pestisitlere sahiptir ve gübre ile birleştirildiği zaman gübrenin etkinliği artar. Sürülmüş toprağa uygulanan neem küspesi bitki köklerini nematod ve karıncalardan korur, toprağı nemlendirir, nötralize eder ve toprağı korur. Neem yaprakları saman ve kuru ottan kaynaklanan demir eksikliğini gidermek için büyükbaş ve küçükbaş hayvanların beslenmesinde kullanılır ve iyi bir besin kaynağıdır. Neem yaprak özütleri aynı zamanda yiyecekler üzerinde çok hızlı gelişen *Aspergillus flavus* fungusu üzerinde de etkilidir. Yüksek oranda toksik olan aflatoksini tutar ve fungusun gelişimine engel olur. Neem yaprakları antidermatik, antifungal, antihelmintik, antiseptik, antiviral olarak kullanılmaktadır. Ayrıca kozmetikte, doğum kontrol hapı yapımında, gübrelemede, insektisit, nematisit ve böcek uzaklaştırıcı olarak da kullanılabilir (Özger vd., 2013). Neem sürgünleri ağız deodorantı, diş ağrısı giderici ve diş temizleyici olarak kullanılır. Neem kabukları ve dalları dişlerin temizlenmesinde de kullanılır. Ayrıca antialerjik, antifungal, antiprotozoal özelliğe sahip olan neem kabukları ve dalları deodorant yapımında kullanılırken, sedef hastalığı, şeker hastalığı, deri hastalıkları, ülser gibi birçok hastalık için tedavi amaçlı kullanılmaktadır (Brahmachari, 2004). Bitkinin odun kısımları zirai alet, araç ve bot yapımında kullanılır. Termitlere karşı dayanıklı oluşundan dolayı, neem odunu inşaatlarda ve marangozlukta da kullanılır. Neem ağacı reçinesi yapışkan madde, meyveleri besin kaynağı, odunu ısı enerjisi, bal, biyogaz, tanen ve rüzgâr kıran olarak da kullanılabilir (Özger vd., 2013).

Neemin omurgalılara toksik etkisi azdır ve neemden elde edilen insektisitlerin iyi bir raf ömrü vardır. Yapılan araştırmalara göre neemden bazı bitkilerde hafif bir fitotoksik etkisi görülebilmektedir. Neem büyük ölçüde böceklerle karşı etkilidir. Neem ürünleri bazı crustacea, yılan, virüs, fungus, nematod ve 400'den fazla böcek türüne karşı etkilidir (Walter, 1999; Girish ve Shankara, 2008; Saha vd., 2011). Sentetik pestisitlere karşı dayanıklı hale gelen 550'den fazla zararlı tür neem ekstraktı ile kontrol edilmektedir (Ascher, 1993; Whalon vd., 2008). Neem böceklerin başkalaşımını etkilemekle birlikte beslenmeyi engelleyici (antifeedant), öldürücü, yumurta ve döl verimi üzerine olumsuz etkiye sahiptir (Waghmare vd., 2007).

1.3. *Cyprinus carpio* L. 1758

Yaklaşık 48000 omurgalı hayvan arasında tür sayısı bakımından balıklar en kalabalık gruptur. 2003 yılı kayıtlarına göre 27.541 tür balık tanımlanmıştır. Bu türlerden 11.768 türü (%42,7) tatlı sularda, 13.151 türü (%47,8) denizlerde, 2.622 türü de (%9,5) yaşamları boyunca bir ortamdan diğerine geçen (diadrom) türlerden oluşmaktadır. Balıklar, 25000 türünü kemikli balıkların (Osteichthyes), diğerlerini de kıkırdaklı balıkların (Chondrichthyes) ve çenesiz balıkların (Agnatha) oluşturduğu 503 aile ile temsil edilirler (Bat vd., 2008). Sazangiller (Cyprinidae) 5000 tür ile dünyadaki balık aileleri içinde en fazla türe sahip olan ailedir ve sistematigi şu şekildedir:

Alem	: Animalia (=Hayvanlar)
Şube	: Chordata (= Kordalılar)
Altşube	: Vertebrata (= Omurgalılar)
Sınıf	: Actinopterygii [= Osteichthyes] (Işınlı yüzgeçliler=Kemikli balıklar)
Takım	: Cypriniformes (Sazangiller)
Aile	: Cyprinidae (Sazanlar)
Cins	: <i>Cyprinus</i>
Tür	: <i>Cyprinus carpio</i> Linnaeus, 1758

Sazan (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) Tuna Nehri'nin dağlık bölgelerinden Karadeniz, Hazar Denizi ve Aral Denizi havzalarına oradan Orta Asya'dan Sibirya'nın doğusuna kadar doğal ortamlarda dağılım gösterir (Kirpichnikov, 1999). Öte yandan, Roma Dönemi'nden bu yana evcilleştirilmesi ve vahşi formların yer değiştirmeleri ve tanıtılması sonucu (Balon, 1995), şu anda 120 ülkenin 91'inde *Cyprinus carpio* bulunmaktadır (Casal, 2006). Aynı zamanda, *Cyprinus carpio* Kuzey Amerika'da (Weber ve Brown, 2009) ve Avustralya'da (Koehn, 2004) uzun süredir sinsi bir tür olarak kabul edilmektedir. Çünkü son zamanlardaki dağılım göstermektedir ki; *Cyprinus carpio* diğer kıtalara da yayılma riskini taşımaktadır

(Zambrano vd., 2006). Ülkemizin bütün bölgelerinde bulunur ve iç su balıkları üretimimizin önemli bir kısmını oluşturan türdür. Üretimin büyük kısmı Ege, İç Anadolu ve Güneydoğu Anadolu bölgesinden sağlanır. (Atay ve Çelikkale, 1983). *Cyprinus carpio* balığı dünyada yetiştiriciliği yapılan en yaygın balık türüdür. *Cyprinus carpio*'nun yetiştiriciliği milattan önceki yıllara kadar uzanmaktadır. *Cyprinus carpio* yetiştiriciliği bu kadar eski olmasına rağmen, yapay yöntemle yavru üretimi ancak 1933-1937 yıllarında Alman bilim adamı Probst tarafından başarılabilmektedir. Bu yöntem daha sonraları hipofiz enjektesi ile tam kontrollü döl almayı mümkün kılan bir duruma Macar bilim adamı Woynarovich tarafından getirilmiştir.

Son 20-25 yıl içinde entansif havuz yetiştiriciliğine ilaveten kanallar, tanklar, kafesler ve ılık sulardaki yetiştiricilik yöntemleri de geliştirilmiştir. 1 m³'lük su hacminden 200–300 kg gibi, inanılması oldukça zor verimlere ulaşılmıştır.

Ilıman iklim bölgelerinin ekonomik öneme sahip en önemli türlerinden olan *Cyprinus carpio* balıkları sıcaklığı sevmesinin yanında soğuğa da dayanıklı olmasından dolayı geniş bir ısı toleransına sahiptir. 20 °C'nin üzerinde iyi gelişme gösterirken 1°C su sıcaklığına ve ani sıcaklık değişikliklerine maruz kaldığında da yaşayabilirler. Yetiştiricilikte 4-30°C arasındaki su sıcaklığı değişimlerine kısa sürede uyum sağlaması ve az miktarda oksijene gereksinim duyması özelliklerinden dolayı entansif (yoğun) yetiştiricilik için çok uygundur (Aydın, 1984). *Cyprinus carpio* balıkları %5 tuzlulukta ve 5-9 arasındaki pH'larda büyümektedir. Yaşadığı ortamın tuzluluk oranı deneysel olarak %12'ye çıkarıldığında da büyümesini sürdürmektedir (Kim vd., 1975). *Cyprinus carpio* dipten beslenen omnivor bir balıktır. Besinlerini bentik su hayvanları, planktonlar, bitki parçaları ve bitkisel artıklar oluşturur. Dipteki küçük su canlılarını çamurla birlikte alıp çamuru geri atar. Bu yüzden çamur içinde oyuklar açar. Büyük *Cyprinus carpio*'ların bazı küçük balıkları yedikleri de gözlenmiştir En iyi yem alımı ve değerlendirmesi, 16-25 °C su sıcaklıklarında ve özellikle 23-24 °C'de olur (Çelikkale, 1988). Doğal yaşam alanı havuzlar, göller ve nehirlerdir (Bakos, 1984). Su sıcaklığı ve yem durumuna bağlı olarak hızlı büyüyen bir balıktır. 20-25 yıl hatta 35-40 yıl yaşadıkları ve boylarının 1 m'nin üzerine çıktığı ağırlıklarının ise 25-30 kg'a ulaştığı bildirilmektedir (Atay ve Çelikkale, 1983; Çelikkale, 1988).

Doğal ortamda gruplar halinde göller ve yavaş akan nehirlerde Mayıs-temmuz aylarında su sıcaklığı 18-20 °C'ye ulaştığında sığ ve bol bitkili su kesimlerinde yumurtlarlar. *Cyprinus carpio*'nın üremesinde en önemli faktör su sıcaklığı olduğundan, kuzey ülkelerinde nadiren ürer veya hiç üremez. Yumurtlama bir haftada tamamlanır. 1 kg vücut ağırlığında iken 200-300 bin yumurta bırakır. Yumurtaları şeffaf ve yapışkandır ve yaklaşık 1 mm çapındadır. Şişmiş yumurtanın çapı yaklaşık olarak 1,6 mm kadardır. Su bitkilerinin üzerine bırakılan yumurtalar 3-4 günde açılır (Bakos, 1984). Yumurtadan çıkan larvaların boyu 5 mm'dir. Yumurtadan çıkan larvalar 1-3 gün süreyle tutunma organları ile su bitkilerine tutunurlar. Bu süre sonunda, su yüzeyine çıkarak yüzme keselerini hava ile doldurup, yüzmeye ve yem almaya başlarlar.

Başlangıçta bitkisel ve hayvansal planktonlarla (algler, rotiferler, küçük kabuklular) beslenirler. Boyları 18 mm olduğunda bentik organizmalarla beslenmeye başlarlar (Atay, 1987).

Yüzgeçlerin sert ısınları yoktur ve genellikle bıyıkları vardır. Kafa pulsuz gövde ise sikloyit-ktenoyit pullu olup yüzme kesesi iki ya da daha fazla boğumludur. Ağızlarında dişleri olmadığından tırpan şeklindeki alt yutak kemiği dişlerle donatılmıştır (Şekil 1.4.).



Şekil 1.4. *Cyprinus carpio* (URL-2).

Cyprinus carpio balığı insan besini, akvaryum balıkçılığı ve biyolojik araştırmalar açısından ülkemizin ve dünyanın en önemli tatlısu balık türlerinden biridir. Bu nedenle üç tarafı denizlerle çevrili olan ülkemizde *Cyprinus carpio* balıkları üzerine yapılan araştırmalar önemlidir. Ayrıca bu balıkların tatlısu indikatörü olmaları, iç pazarda düşük gelirli vatandaşlarımız tarafından sıklıkla tüketilmesi ve besin değerinin yüksek olması bu araştırmaların önemini daha da artırmaktadır.

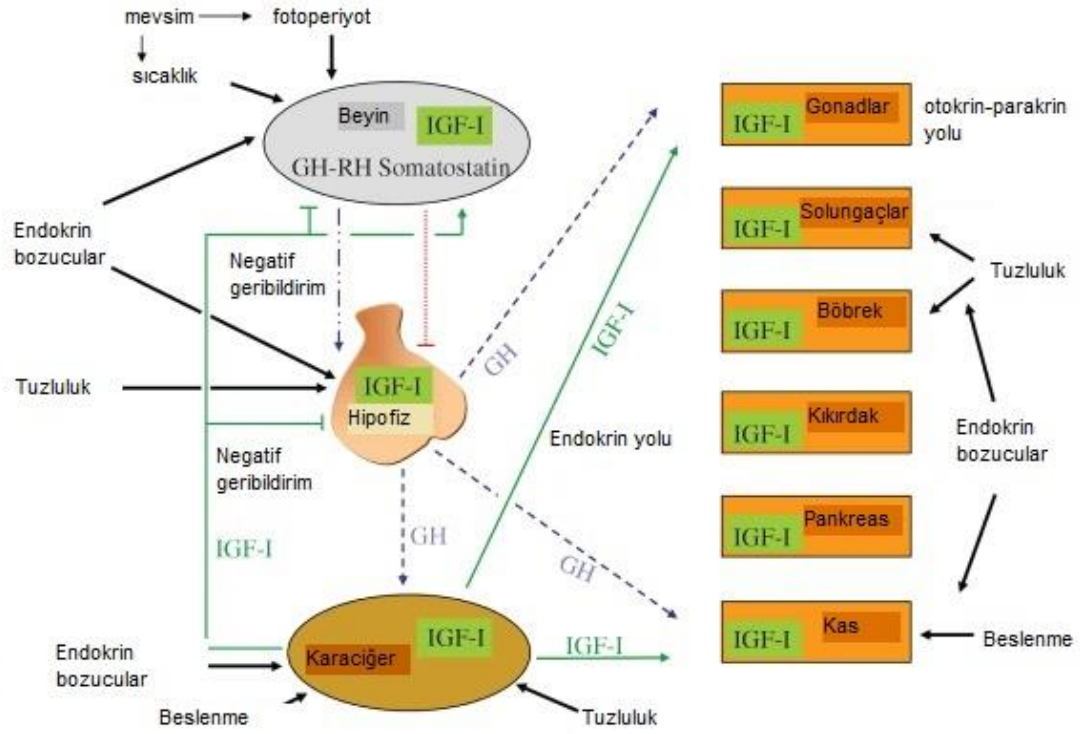
1.4. Pestisitlerin Balıklar Üzerinde Hormonal, Hematolojik, Antioksidan ve Histopatolojik Etkileri

Pestisitlerin balıklara etkileri değişik şekillerde görülür. Direkt olarak öldürme söz konusu olabileceği gibi yumurta koymayı ve üremeyi durdurmak suretiyle de balık popülasyonu üzerinde etkili olabilmektedirler. Ayrıca dokularda meydana getirdikleri hasarlar ile balıklarda duyarlılığa yol açarak mevsimlik ısı değişimlerinden ve geçici açlıktan gereğinden fazla etkilenirler (Atamanalp ve Yanık, 2001). Yavru balıklar ise hassas oldukları için bu durumdan daha fazla zarar görürler (Toros ve Maden, 1991). Pestisitler balıklarda halsizlik ve yüzme

kabiliyetlerini değiştirerek av olma, beslenme kabiliyetlerini azaltma, durumunu koruma ve alanlarını koruma konusunda sıkıntı oluşturmaktadır. (Prashanth vd., 2011). Pestisitler balıkların düzensiz ve dengesiz hareket ederek ve yüzerek (Gohel ve Dodia, 2015) sürü davranışını kesintiye uğratmaktadır (Gill ve Raine, 2014). Sürü davranışının bozulması balığın kolay ve müsait bir av olmasını kolaylaştırmaktadır. Pestisitler göç balıklarının göç davranışlarında da değişikliğe neden olarak somon balıklarının tatlı sudan denize göç kabiliyetini etkilemekte ve yaşam döngüsünü değiştirmektedir (Gohel ve Dodia, 2015). Kirlenmiş alanlardan göç eden somon balıklarının göç davranışları değişmekte ve bunun sonucunda yumurta bırakma olayının ertelenmesine sebep olmaktadır (Satyavardhan, 2013). Pestisitler ayrıca balıkta histopatolojik değişiklikleri uyarmaktadır. Pestisitlerin biyokimyasal aktiviteler üzerine tahrip edici etkisinin olduğu birçok çalışma ile gösterilmiştir. Antioksidan sistem üzerindeki bu değişiklikler dokuya özgüdür ve bu değişiklikler farklı balıklarda beyin, solungaç, kas, böbrek, akciğer gibi iç organlardadır ve değişik sonuçlar göstermektedir. Sonuç olarak; doğal su ortamının kimyasal bileşimdeki değişiklikler bu çevredeki sakinlerin en çok da balıkların davranışsal ve fizyolojik sistemlerini etkilemektedir. Dolayısı ile pestisitler organizmalarda bazı enzimlerin ve hormonların aktivitelerini etkileyerek birçok histopatolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve genetik değişikliklere neden olurlar (Khan ve Law, 2005).

Somatotropik hormon ya da somatotropin olarak da isimlendirilen büyüme hormonu (BH) vücutta büyüme yeteneğine sahip dokularda büyümeye neden olur. Omurgalılarda büyüme genetik kontrol altındadır. BH hücre boyutlarını ve mitozu artırarak daha fazla sayıda hücrenin oluşmasını ve gelişmesini sağlar, kemik büyüme hücreleri veya öncü kas hücreleri gibi belli hücre tiplerinin farklılaşmasını sağlar. Büyüme hormonunun büyümeye neden olan genel etkilerinin yanında vücut hücrelerinde protein yapım hızında artış, kanda yağ asitlerinin artması, yağ asitlerinin enerji için kullanılmasında artış ve bütün vücutta glikoz kullanım hızında azalmaya neden olan etkileri vardır. Sonuçta büyüme hormonu vücut proteinini artırırken yağ depolarının kullanılmasını ve karbonhidratların korunmasını sağlar. BH diğer omurgalılarda olduğu gibi teleostta da sentezlenen çok yönlü bir hormondur. BH etkisini bir geçiş transmembran reseptörü olan BH reseptörüne bağlanarak yapar. BH, iyonik ve ozmotik dengenin düzenlenmesi, lipid, protein ve karbonhidrat metabolizması, iskelet ve yumuşak doku büyümesi, üreme ve immün fonksiyon gibi

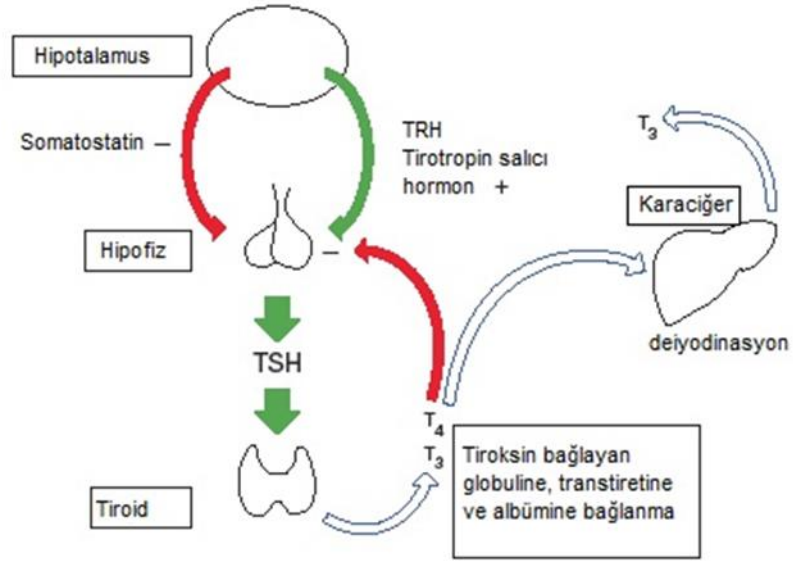
birçok önemli fizyolojik olayda görev alır. Güncel çalışmalar BH'nin bazı açıdan davranış, iştah, yiyecek arama davranışı, saldırganlık ve avcılardan kaçış gibi sonuçları etkilediğini göstermektedir (Reinecke vd., 2005). Aynı zamanda sıcaklık, foto periyot ve besin elde edilebilirliği gibi çevresel faktörlerde büyümede etkilidir. Dış uyarılar ve iç fizyolojik durumlar beyinde değerlendirilir ve hipotalamus, hipofiz gibi endokrin, çevresel ve hedef organlara iletilir. BH etkisini İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF) ile gösterir (Moriyama vd., 2000). Karaciğer IGF üretimi için öncelikli örnektir. Diğer IGF sentezi yapan organlar beyin, kas, böbrek, bağırsak vb. (Etherton, 1993). Lokal olarak üretilen peptidler otokrin veya parakrin olarak görev yapar. IGF-1, IGF-2 ve proinsülin yapısı büyük oranda benzerlik gösterirler. Balıkta hepatik IGF-1 mRNA ekspresyonu ve peptid sentezi BH tarafından uyarılır (memelilerde olduğu gibi). Ayrıca beslenme, gelişme ve mevsimsel numunelerde IGF-1 seviyeleri balıklarda ve memelilerde benzerlik gösterir (Moriyama vd., 2000). IGF'nin biyolojik faaliyetleri IGF reseptörleri aracılığıyla gerçekleştirilir. Memelilerde yapılan çalışmalar göstermektedir ki BH/IGF-1 sistemi bir akstır ve BH'nin fizyolojik faaliyetleri IGF-1 aracılığıyla yapılmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar IGF'nin tanımlanması, IGF-1 peptid veya mRNA'nın kan ve dokudaki seviyesinin belirlenmesi üzerinedir. Çalışmalar balığın beslenme durumu, mevsimsel olarak IGF-1'in kandaki ve dokudaki ekspresyonu, değişimi, BH ve tiroid hormonu (TH) ile östrojen gibi diğer endokrin hormonlar tarafından IGF-1'in üretiminin kontrolü üzerine odaklanmıştır (Reinecke vd., 2005). Çalışmalar göstermektedir ki IGF-1 yapısı, regülasyonu ve fonksiyonları balıkta ve memelilerde benzerlik göstermektedir.



Şekil 1.5. Balıkların BH-IGF-I sisteminin şematik diyagramı (Reinecke, 2010).

Balığın toksik strese ve kirliliğe karşı tepkisinin değerlendirilmesinde endokrin yanıt, erken uyarı göstergesi olarak değerlendirilebilmektedir. Ayrıca, hormonun dolaşımdaki seviyelerinin ölçülmesi kimyasalların öldürücü etkileri hakkında ek bilgiler sunabilir. Tiroid hormonları nöroendokrin hipotalamus-hipofiz-tiroid eksen aktivasyonu üzerine sentezlenmektedir ve bu durum omurgalıların hemen hemen her hücresinde aktiftir. Tiroid uyarıcı hormon (TSH), Tiroksin (T_4) ve triiyodotronin (T_3) omurgalıların fizyolojik süreçlerinde geniş çapta biyolojik etkilere sahip başlıca hormonlardandır. Bu üç hormon balıklarda tiroid hormon homeostasisı değerlendirmek için rutin olarak kullanılmaktadır. Ayrıca rutin olarak potansiyel biyobelirteçler olarak değerlendirilmektedirler. Sayısız omurgalıya benzer şekilde, balıklarda tiroid homeostazisi, tiroid endokrin sisteminin kontrol edildiği hipotalamus-hipofiz-tiroid (HPT) ekseninin düzenlenmesine tabidir (Şekil 1.6.). Balıklarda tiroid endokrin sistemi, primer olarak HPT eksenini tarafından kontrol edilir. Bu da farklılaşma, göç, cinsel olgunlaşma, büyüme, metabolizma, ozmoregülasyon ve tuzluluk adaptasyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Balıklarda, plazma tiroid hormonlarının çoğu, belirli bir tiroid hormon taşıma proteini olan transtiretin ile bağlanır ve bir yanıt ortaya çıkarmak için sadece serbest

hormonlar hedef hücrelere girebilir. TSH omurgalı glikoprotein hormonu ailesinin bir üyesidir. TSH, tiroid hormonları olan tiroksin (T_4) ve T_3 üretmek için tiroid bezini uyarır. T_4 tiroid bezi tarafından T_3 'ten çok miktarda üretilir ve ekstra tiroidal dokularda T_4 'ün deiyodinasyonu daha aktif biyolojik hormon olan T_3 'ün ana kaynağıdır (Saravanan vd., 2014). Hipotalamus tarafından salgılanan tiotropin salgılatıcı hormon (TRH), TH sentezini ve salınmasını düzenleyen hipofiz bezinden TSH salınmasını kontrol ederek HPT aks fonksiyonunu koordine eder. T_4 , deiyodinaz enzimleri örneğin Dio 1 ve Dio 2 ile biyolojik olarak aktif T_3 'e dönüştürülür. T_3 , tiroid hormon reseptörlerine bağlanır ve hedef organlardaki etkilere aracılık eder. Tiroid bezi büyüme, gelişme ve bazal metabolizma düzenleyicisi olan tiroid hormonu ve kalsiyum homeostasisini düzenleyen kalsitonin salgısından sorumlu endokrin bezdir. Birçok çevresel kirleticilerin tiroid fonksiyonunu ve gelişimini olumsuz etkilediği bilinmektedir (Tu vd., 2016).



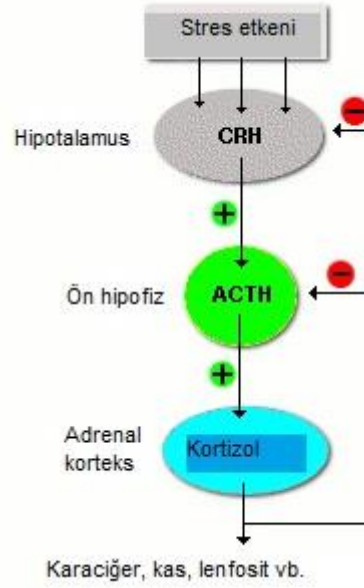
Şekil 1.6. Hipotalamus-hipofiz-tiroid fizyolojisi (Mortimer, 2011).

Stres unsuru, metabolik aktiviteler üzerinde etkili olmaya başladığı zaman fizyolojik cevap olarak hücrelerde birçok biyokimyasal ve kimyasal değişimler meydana getirir. Bu değişimler metabolizmada geri dönüşümlü veya dönüşümsüz hasarlara neden olup balığın büyüme, solunum, gelişim, üreme gibi birçok hayati fonksiyonunu sınırlamakta, homeostatik dengenin bozulması ve tekrar kurulamaması

sonucu ölümler meydana getirmektedir. Balığın stres unsuruna karşı verdiği ilk tepki davranışsal olarak gözlenir. Davranışsal yanıt ise kortizol hormonunun interrenal, adrenalin hormonunun ise kromaffin hücrelerden salgılanmasını tetikleyerek HPI aksı yoluyla endokrinal yanıtı başlatır. Kan yoluyla dokulara taşınan bu hormonlar hücrelerde metabolik aktiviteyi hızlandırarak enerji gereksiniminin artmasına neden olur (Iwama, 2004).

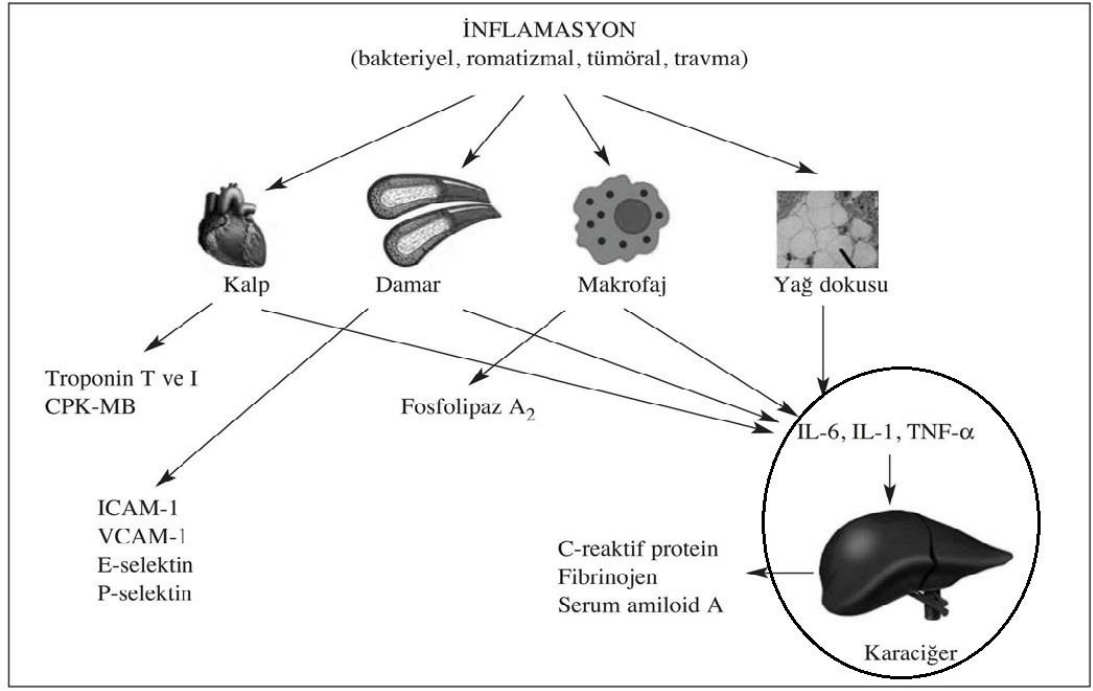
Olumsuz çevre koşulları ve çeşitli etkenler, omurgalılarda vücudun normal işlevini sürdürmesini engelleyeceğinden, homeostatik işlemler fizyolojik süreçlerin sürdürülmesi için yetersizdir (Smith ve Dobson, 2002; Todini vd., 2006). Bu bağlamda stres durumunda adrenokortikotropin hormonu (ACTH), glukokortikoidler, katekolaminler, prolaktin ve TH gibi hormonların seviyelerinde değişim görülür. Adrenal bezler, hem hipotalamus-hipofiz-interrenal (HPI) eksene hem de sempatik-adrenal medulla sistemine katıldıkları için strese karşı hormonal yanıtta önemli bir rol oynamaktadır. Olumsuz koşullar adrenal bez hormonlarının salgılanmasını etkileyerek glukokortikoidlerin salgısında artışa neden olur (Möstl ve Palme, 2002; Olsson ve Dahlborn, 2007). Bir organizmada strese karşı tepki, birincil tepki olarak katekolamin (epinefrin ve norepinefrin) seviyesinde bir artış ve adrenokortikotropin (ACTH) hormonunun salınmasına bağlı olarak ikincil bir hormonal tepki olan glukokortikoidlerin (kortizol) artışı şeklinde gerçekleşir. Sonuç olarak, bu hormonal etki organizmada hemokimyasal (metabolit, enzim, elektrolit), hematolojik ve davranışsal değişikliklere neden olur (Wendelaar Bonga, 1997; Mommsen vd., 1999).

Balıktaki birincil stres cevabının genel bir özelliği, HPI ekseninin aktivasyonudur. Stresin sinir sisteminin sensörleri tarafından algılandıktan sonra verilen nöroendokrin yanıt, hipotalamus tarafından CRH (kortikotropin salgılatıcı hormon) salgılanmasını içerir. Hipofiz bezinin kortikotropik hücrelerindeki uyarılan CRH reseptörleri, ACTH salgılanmasına yol açarak, böbrek interrenal hücreleri tarafından kortizol salımını uyarır (Şekil 1.7.). Balıklarda en sık ölçülen stres göstergelerinden biri dolaşımdaki kortikosteroid, kortizol konsantrasyonudur. Kortizolün doğrudan ve/veya dolaylı olarak, aralarında metabolizma, iyonik ve ozmotik regülasyon ve bağışıklık fonksiyonunda (Wendelaar Bonga, 1997) önemli bir rol oynadığına dair kanıtlar giderek artmaktadır (Mommsen vd., 1999).



Şekil 1.7. Omurgalılarda hipotalamus-hipofiz-adrenal korteks aksı (URL-3).

Organizmalar stres etkenleriyle (çevresel, fiziksel ve kimyasal, vb.) karşılaştıklarında farklı tepkiler gösterir. Bu reaksiyonlar hayvanlarda, immünolojik, fizyolojik, hormonal ve davranışsal olarak ortaya çıkar. Bağışıklık sisteminin tepkisi organizmanın verdiği ilk yanıtıdır ve bazı düzenleyici araçları serbest bırakmaktadır. Proinflatuvar sitokinler (interlökinler, IL1 ve IL6, tümör nekroz faktörü- α =TNF- α) immünolojik sistem tarafından salınan önemli düzenleyicilerdir (Şekil 1.8.). Bir patojenin organizmaya girmesi TNF- α ve IL yanıtlarının başlatılmasında önemli bir role sahiptir ve aynı zamanda genlerin transkripsiyon seviyeleri çevresel kimyasallar tarafından indüklenen etkili biyolojik belirteç olarak kabul edilir. TNF- α aktif makrofajlar tarafından salgılanır ve T hücrelerinin, doğal öldürücü hücrelerin, makrofajların ve dendritik hücrelerin normal fonksiyonu için kritik öneme sahiptir. IL-1 β , nötrofilleri ve makrofajları aktifleştirirken yaralanma bölgesinde birikmelerini sağlar. Geleneksel bir inflamasyon belirteci olarak bilinen IL-6, akut faz proteinlerinin indüksiyonunu teşvik eder. Aynı zamanda akut kronik inflamasyona geçişin düzenlenmesinde, T lenfositlerinin ve B lenfositlerinin uyarılmasından rol oynar (Jin vd., 2015).



Şekil 1.8. İnterlökin sentez mekanizması (Yücel, 2004).

Balık yetiştiriciliğinde, balıkların fiziksel durumlarının belirlenmesinde, stres ve hastalıkların kontrolünde balıkların hematolojik parametreleri her geçen gün daha yaygın olarak kullanılan indikatörlerdir (Hickey, 1976). Balıktaki hematolojik parametrelerdeki değişiklikler çevresel strese karşı fizyolojik tepkilerin işaretidir. Hematolojik parametreler balıklarda strese yol açan şartların tespitinde (hastalık, parazit enfeksiyonları, kirleticilerin biyolojik birikimi), farklı balık taksonları arasındaki filogenetik ilişkilerin açıklanmasında, fizyolojik sağlık durumunun tespit edilmesinde ve farklı kan hücrelerinin tanımlanmasında kullanılır. Balıklarda, hematolojik parametreler çevre şartlarındaki değişikliklere kısa sürede cevap verdiğinden toksikolojik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu parametreler organizmaların klinik durumları hakkında önemli bilgiler vermektedir. Balıklarda hematolojik değerler su sıcaklığı, iklimsel değişikliklerle ilişkili olan mevsimsel varyasyonların etkisiyle değişiklik göstermektedir. Balıklarda kan hücrelerini, eritrositler (kırmızı kan hücreleri=RBC), lökositler (beyaz kan hücreleri=WBC) ve trombositler oluşturmaktadır. Balıklardaki eritrositler (kırmızı kan hücreleri) kan hücreleri arasında en fazla miktara sahip hücrelerdir ve memeliler dışındaki omurgalı canlıların kan hücrelerine benzer yapıdadır. Eritrositler kırmızı renktedir ve bu renk bir protein olan globulin ile demir içeren hemoglobin pigmentlerinden kaynaklanmaktadır. Eritrosit miktarındaki değişimler balıkta

herhangi bir hastalık belirtisi olarak kabul edilir. En önemli işlevleri içerdikleri hemoglobin (Hb) sayesinde solungaçlardan dokulara oksijen ve dokulardan solungaçlara karbondioksit taşımalarıdır. Hemoglobin, hematokrit (Hct) ve RBC miktarlarının tespiti ile anemi belirlenir. Ayrıca, Wintrobe indeksleri olarak adlandırılan; ortalama eritrosit hacmi (MCV), eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin (MCH) ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) da aneminin tespitinde önemlidir. Hemoglobin bir solunum pigmentidir. Atomlarının ortasında bir demir atomu bulunan bir pigmente ‘hem’ adı verilir. Hem pigmenti kana kırmızı rengi verir ve oksijeni kendine bağlayarak taşır. Her bir heme grubu iki veya dört aminoasit grubundan oluşur. Bunun protein kısmını ise globin molekülü oluşturur. Kanın oksijen taşıma kapasitesi bir solunum pigmenti olan hemoglobinin miktarına bağlıdır. O da eritrositlerin sayısına göre değişir. Çünkü kanın oksijen bağlama kapasitesini arttıran hemoglobindir. Hemoglobin bilim adamları tarafından yoğun olarak çalışılan bir proteindir. Balık kanında beyaz kan hücreleri lökosit (akyuvarlar) olarak adlandırılır. Bu kan hücreleri oval veya yuvarlak şekillidirler. Lökositler; granüler hücreler (nötrofil, eozinofil, bazofil) ve granüler olmayan hücreler (lenfosit ve monositler) olarak ikiye ayrılmaktadır. Granülositlerden nötrofil ve eozinofiller genelde fagositik özelliğe sahip olup hastalıklarla savaşta rol oynarlar. Nötrofiller ve eozinofiller balıklarda en yaygın görülen hücrelerdir, bazofiller ise birçok balık türünde bulunmaz. Granülositler de makrofajlar gibi kandan (monosit), lenfoid organlardan (böbrek) ve periton boşluğundan kolaylıkla izole edilebilirler. Balık kanında granülosit sayıları stresli koşullarda artış göstermektedir (Yılmaz, 2015).

Hematolojik parametreler, yaygın olarak ölçülen diğer parametrelere göre balıkların kötü koşullarını daha hızlı yansıttığı ve çevresel koşullardaki değişikliklere hızla tepki verdiğiinden stres yanıtlarını izlemek amacıyla sağlıklı balıkların tanımlanması, hayvanların sistemik ilişkileri ve fizyolojik adaptasyonlarını öngörmek için yaygın olarak kullanılmaktadır.

Hematolojik analiz hem vahşi hem de kültür balıklarının durumunu değerlendirmek ve izlemek için önemli bilgiler sağlayabilir. Hematolojik indeksler, balık türlerine, yaşına, cinsel olgunluk döngüsüne ve sağlık durumuna bağlı olarak değişir (Blaxhall, 1972). Hastalıkların, sudaki kirliliğin ve tarımsal kimyasalların varlığının balıkların

kan hücrelerinde değişikliklere neden olduğu ve su ürünleri yetiştiriciliğinde kayıplara yol açtığı bilinmektedir.

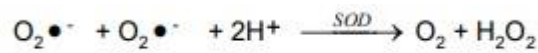
Çevresel ve biyolojik faktörlerin etkisi altında kalmış bir organizmada meydana gelebilecek kompleks değişik etkisi oluşan stres sonrası hematolojik parametrelerde meydana gelen değişimlerle gösterilebilmektedir (Örün, 2000). Kan dokunun fiziksel ve kimyasal yapısı organizmada meydana gelen değişiklikleri doğru olarak yansıtmaktadır. (Velisek vd., 2006).

Hematolojik parametrelerin ölçümü, toksik maddelere maruz kalan hayvanların yapısal ve işlevsel durumlarının teşhisinde önemlidir, çünkü kan parametreleri çevresel veya fizyolojik değişikliklere ve sağlık koşullarına karşı oldukça duyarlıdır (Talas ve Gulhan, 2009; Suvetha vd., 2010). İnsan klinik tıbbında ve balıklarda RBC sayıları, Hb, Hct, WBC sayıları ve hematoloji endeksleri (MCH, MCV ve MCHC) organların fizyolojik hasarı için uygun ölçümlerdir. Balık kanındaki monositlerin sayısı normalde çok düşük miktarda olmasına rağmen yabancı bir maddenin vücuda girmesiyle çok kısa bir sürede sayıları artabilmektedir (Roberts, 2001). Lenfositler kazanılmış bağışıklıktan sorumludurlar ve kazanılmış bağışıklık belli bir antijeni özel olarak tanıyan spesifik lenfositlerin uyarılması ve aktive olmasıyla ortaya çıkmaktadır (Diker, 2005). Lökosit hücrelerinin bulunması balıkların sağlıklı olduklarının göstergesidir (Morgan ve Iwama, 1997). İmmün sisteminin bozulması durumunda ise lökosit sayısında azalma meydana gelmektedir (Zhiteneva vd., 1989; Palm vd., 1992).

Oksijenli solunum yapan bütün canlılar gibi balıkların da ROS'ların zararlı etkilerine karşı savunma sistemi gelişmiştir. Bu savunma sistemine antioksidan savunma sistemi denir. Aerobik canlıların tüm hücrelerinde gerçekleşen metabolik reaksiyonlar için gerekli olan oksijen, aynı zamanda çok tehlikeli toksik formlar olan serbest radikallere dönüşebilmektedir (Fang vd., 2002; Gök vd., 2006). Organizmada en aktif serbest radikal üreticiler fagositik hücrelerdir. Hücre zarını oluşturan fosfolipitler, glikolipitler, gliseritler, DNA, doymamış yağ asitleri ve membran proteinleri gibi oksitlenebilen tüm hücre elemanları serbest radikaller için çekici hedeflerdir. Zaman zaman oksidan moleküller, belirli düzeyin üstüne çıkarak reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunu durduramamakta ve antioksidan defans mekanizma dengesini bozmaktadır. Hücrelerde gerçekleşen tüm metabolik aktivitelerde serbest

radikaller oluşabilmektedirler. Serbest radikaller dış orbitallerinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron bulunan, kısa ömürlü, reaktif atom, iyon veya moleküllerdir (Choi vd., 2004). Organizmada enerji açığa çıkması, metabolik süreçlerde ortaya çıkan serbest elektronların bir sistemden diğerine aktarılmasının sonucudur. Elektronların aktarılma esnasında elektron transfer zincirinden sızan elektronların oluşturduğu oksiradikaller hücrelerde bütünlük ve geçirgenlik bozuklukları oluşturmaktadır (Fang vd., 2002).

Enzim faaliyetleri ayrıca, çeşitli su kirleticiler grubuna maruz kalan balıklarda stresin hassas göstergesi olarak ve yaşam için tehdidinin olası seviyelerini öngörmek için kullanılmıştır. Potansiyel olarak toksik olan bileşiklerin veya metabolitlerinin çoğu balıklarda oksidatif stres ile ilgili zehirli etkiler göstermiştir (Hernández-Moreno vd. 2014). Hücreler serbest radikallerin zararlı etkilerini nötralize etmek için çeşitli savunma mekanizmalarına sahiptirler. Balık, detoksifikasyon aktivitelerine sahip SOD, CAT ve glutatyon (GST) ailesi gibi çeşitli antioksidan savunma enzimlerinin metabolizmasından kaynaklanan ROS etkisine karşı savunma mekanizmaları ile donatılmıştır (Tjalkens vd., 1998). Balıklarda katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi enzimler başlıca enzimatik antioksidan sistemlerdir. CAT ve SOD oksidatif stresin önemli biyolojik belirteçleri olarak düşünülmektedir. Oksidatif stres, antioksidan savunmanın preoksidan kuvvetler ve ROS ile aşılması durumunda ve yeterince kaldırılmadığında ortaya çıkar (Sies, 1997). SOD süperoksit serbest radikalının ($O_2^{\bullet -}$) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir (Şekil 1.9).



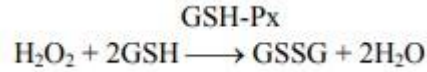
Şekil 1.9. SOD enzim aktivitesi.

CAT, H_2O_2 'ye karşı primer hücresel enzimatik savunmadır. CAT, H_2O_2 'yi H_2O ve O_2 'ye dönüştürür (Şekil 1.10.) ve serbest radikalleri süpürme işlemi için kritik bir öneme sahiptir (Dorval vd., 2003).



Şekil 1.10. CAT enzim aktivitesi.

GSH-Px ise hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir (Şekil 1.11.).



Şekil 1.11. GSH-Px enzim aktivitesi.

ROS üretim oranı, bunların uzaklaştırılmasını aştığında oksidatif stres oluşur. Pestisitler de dâhil olmak üzere birçok çevre kirleticisi, balıklarda oksidatif stres oluşturabilir (Pandey vd., 2003; Monteiro vd., 2006). Bu olay, hücresel makromoleküllerle sıkça reaksiyona girerek enzim inaktivasyonuna, lipid peroksidasyona, DNA hasarına hatta hücre ölümüne yol açan serbest radikaller veya oksidatif radikalleri (O_2^- , H_2O_2 ve $\cdot\text{OH}$) gibi oldukça reaktif bileşiklerin oluşumuyla sonuçlanmaktadır (Van der Oost vd., 2003).

Hayvan dokularındaki histolojik değişimler çevresel stresörlerin etkilerinin indikatörü olarak kabul edilir. Solungaçların değişen ortama ilk önce tepki gösteren en hassas organlar arasında olduğu iyi bilinir. Çünkü solunum, ozmoregülasyon ve boşaltım solungaçlar aracılığıyla gerçekleştirilir (Lease vd., 2003; Ramah, 2011). Karaciğer bir hayvanın safra salgısı, protein, karbonhidrat ve lipid metabolizması, besin depolanması ve detoksifikasyon gibi hayati fonksiyonlarını yerine getiren organdır. Karaciğerde nekroz ve morfolojisinin değişimi organizmanın ölümüne neden olabilecek ikincil hasarlara neden olur (Velkova-Jordanoska ve Kostoski, 2005).

Bu çalışmada AZA'nın ticari formlarından biri olan Neemazal-T/S'nin (10g/L AZA) doz (1,20 ppm ve 2.4 ppm) ve süreye (4 gün ve 30 gün) bağlı olarak *Cyprinus carpio* balığındaki hormonal, hematolojik, antioksidan ve histopatolojik etkileri incelenmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Balık sağlığı, doğal hayatın korunması ve insanlar açısından kaliteli bir beslenme yaklaşımına olumsuz etkisi olan çeşitli kimyasal ajanların akut ya da subkronik etki düzeylerini ortaya koymada; hormonal, biyokimyasal, hematolojik, antioksidan ve histopatolojik yöntemler sıkça kullanılmaktadır (Adhikari vd., 2004). Hatta biyokimyasal ve hematolojik parametreler, olumsuz çevre koşullarının balıklar üzerinde oluşturduğu etkinin varlığını, tipini ve şiddetini göstermede indikatör olarak kullanılmaktadır (Blaxhall, 1972; Kavitha, 2010).

BH'nin somatik büyüme üzerindeki etkileri bir dizi çalışmalar ile balıklarda yapılmıştır (Lal vd., 2013). BH büyüme hormonu, büyümeyi teşvik etmenin yanı sıra balığın gelişmesi, üremesi üzerinde ve ozmoregülasyonda önemli roller oynar (Reinecke vd., 2005; Sakamoto ve McCormick, 2006). Dolaşımdaki IGF-1 ve büyüme oranı arasında pozitif bir korelasyon çeşitli balıklar üzerinde yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur (Lal vd., 2013).

Pestisitlerin balıkların somatik büyümesinin temel düzenleyici aksı olan BH/IGF-1 aksı üzerine etkileri ile ilgili çalışmalar kısıtlıdır (Sumpter, 1991). Boada vd., (2007) organoklorin pestisitlerin insan serum IGF-1 düzeyini azalttığını göstermişlerdir. Lal vd., (2013) aşırı düşük ortam sıcaklığında aç bırakılan balıklarda malathion'un besin tüketimi ve balığın büyümesi üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını ve balığın hayatta kalmak için sadece bazal metabolik faaliyetlerini koruduğunu bildirmiştir.

Bir surfaktan olan 4-nonylphenolun Atlantic salmonun serum IGF-1 düzeyini azaltarak somatik büyümenin azalmasına neden olduğu rapor edilmiştir (Arsenault vd., 2004). *Oreochromis niloticus*, *Chrysichthys nigrodigitatus* ve *Clarias gariepinus* (Hanson vd., 2007), *Oreochromis niloticus* (Sweilum, 2006; Bose vd., 2011), *Danio rerio* (Cook vd., 2005), *Oncorhynchus tshawytscha* (Baldwin vd., 2009) ile yapılan

önceki çalışmalar pestisitlerin büyüme geriliğini uyardığını rapor etmişlerdir. Ayrıca Nieves-Puigdoller vd., (2007) Birleşik Devletler'in nehirleri boyunca son derece hareketli ve yaygın olarak kullanılan hexazinone ve atrazine herbisitlerine 10 gün boyunca maruz kalan Atlantik somonu balıklarının büyüme oranında azalmaların olduğunu bildirmesi toksik maddelerin BH/IGF-1 aksı üzerine inhibe edici özelliklerin olduğunu göstermesi bakımından önemlidir. Eder vd., (2008) klorpirifos ve esfenvalerate'ın juvenil Chinook somonunda, 20 ve 60. günlerde dalakta IGF-1 transkripsiyonunu önemli ölçüde azalttığını tespit etmişlerdir.

Ayrıca Oladimeji ve Ologunmeta, (1987) kurşunun sublethal konsantrasyonlarına maruz kalan *Oreochromis niloticus*'un, Chinabut vd., (1987) *Cyprinus carpio*'nun 4,50, 1,50 ve 0,25 mg dm⁻³ insektisit dipterex'e maruz kaldığında, Ufodike ve Omoregie (1990) *Tilapia nilotica*'nın gammalin 20 ve actellic 25 EC insektisitlerinin 1,00, 0,50, 0,25 ve 0,125 mg dm⁻³'üne maruz kaldığında büyümede benzer bir azalma görüldüğünü rapor etmişlerdir. Mevcut araştırmalarda bildirilen doza bağlı azalma, bu çalışmalar tarafından da belirtilmiştir.

Güncel çalışmalar; açlık, stres, beslenme koşulları, balığın yaşadığı ortamları ve balıkların maruz kaldığı organik ya da sentetik kimyasalların büyümeleri üzerine olumsuz etkiler oluşturduğunu göstermektedir.

Çok sayıda çevresel stres faktörü, balık tiroid aksında akut veya subkronik etkiler yapar. Bu gibi etkilere, tiroidal değişiklikler, plazma T₄ ve T₃ seviyelerinin dengesizliği veya tiroid dokularının hasar görmesi yoluyla aracılık edilebilir (Tiroidal hipertrofi, hiperplazi). HPT aksı, omurgalılarda, üreme kontrolünü de içeren diğer endokrin sistemlerle karmaşık bir şekilde ilişkilidir (Nugegoda ve Kibria, 2017). *Heteropneustes fossilis* (Bloch) balığının malathiona (10 ve 20 ppm) ve beta-hekzaklorosikloheksana (8 ppm) 4 hafta maruziyeti sonunda plazma T₄ seviyesinde düşüş tespit edilmiştir. Hekzaklorosikloheksana maruz kalan balıklarda, plazma T₃ ve T₃/T₄ oranını önemli ölçüde düşürmüştür (Yadav ve Singh, 1986). Wang vd., (2015b) yetişkin dişi zebra balıklarında T₄ ve T₃ düzeylerinin üç ay boyunca tris (1,3 dikloro-2 propil) fosfata maruz kaldıktan sonra azaldığını bildirmişlerdir. Zebra balık larvalarının difenoconazolea maruz kalması T₄ seviyelerini önemli ölçüde azaltırken T₃ konsantrasyonlarında değişime neden olmadığı Liang vd., (2015) tarafından rapor edilmiştir.

Dişi tatlı su balığı, *Clarias batrachus*, yıllık üreme döngülerinin yumurtlama öncesi ve yumurtlama evreleri sırasında, karbarilin (96 gün için 12 mg/litre ve 16 gün için 5 mg/litre) sublethal konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. Her iki deney sırasında 96 saat boyunca karbaril maruziyeti T_4 'ü baskılamış ancak serumda T_3 ve T_3/T_4 oranı da artmıştır. Ancak 16 günlük maruziyet T_4 ve T_3 'te ve T_3/T_4 oranında düşüşe neden olmuştur (Sinha vd., 1991).

Danio rerio embriyoları fertilizasyon sonrası 120 saate kadar çeşitli konsantrasyonlarda heksaklorosikloheksana (0,625, 1,25 ve 2,50 mg/L) ve tebuconazole (1, 2 ve 4 mg/L) maruz bırakılmıştır. Heksaklorosikloheksan ve tebuconazole maruz kaldıktan sonra T_4 düzeylerinin anlamlı olarak azaldığını, T_3 konsantrasyonlarının anlamlı olarak arttığını göstermiştir. Bu sonuçlar tiroide endokrin bozulmalarının olduğunu göstermektedir (Yu vd., 2013).

Yetişkin *Gambusia affinis*'in 2, 10 ve 30 gün boyunca 0, 0,10, 1, 10, 100 ve 1000 mg/L sodyum perkloratlara maruz kalanlarından 30 günlük grubun T_4 konsantrasyonlarında azalma rapor edilmiştir. Perklorata maruz kalan sivrisine balıklarında tüm vücut T_4 konsantrasyonunda sadece hafif bir azalma olmasına rağmen diğer çalışmalar, serum T_4 konsantrasyonlarında büyük düşüşler göstermiştir (Bradford vd., 2005).

Adrenal bezler, hem hipotalamus-hipofiz-adrenalkorteks eksenini hem de sempatik-adrenalmedulla sistemine katıldıkları için strese karşı hormonal yanıtlarda önemli rol oynar. Olumsuz koşullar, glikokortikoidlerin artışına neden olan adrenal bez hormonlarının salgılarını etkiler (Möstl ve Palme, 2002; Olsson ve Dahlborn, 2007). Stres yanıtları; birincil tepki olarak katekolamin (epinefrin, norepinefrin) seviyesi artışlarına, ikincil hormonal yanıt ise ACTH hormonu salgılamasına bağlı olarak glikokortikoidlerin (kortizol) artışına neden olur. Sonuçta bu hormonal etki ile canlıda hemo-kimyasal (metabolik, enzim, elektrolit), hematolojik ve davranışsal değişiklikler şeklindedir (Wendelaar Bonga, 1997; Mommsen vd., 1999).

Metil-parathion, atrazin+simazin ve glifosatın subletal konsantrasyonlarına akut sürede maruz kalan jundia yavru balıklarında akut strese karşı kortizol cevabı üzerinde zararlı bir etki gösterdiği rapor edilmiştir (Cericato vd., 2009). *Cyprinus carpio* balığı yavrularının bir organofosfat insektisiti olan fenitrothiona maruz

kalması yavruların serum kortizol düzeylerinde artışa neden olmuştur (Sepici-Dinçel vd., 2007). *Labeo rohita* balığının akut (24 ve 96 saat) sürede 0,438 mg L⁻¹ ve sublethal sürede (35 gün) 0,0438 mg L⁻¹ deltamethrine maruz kalması plazma kortizol seviyesinde anlamlı artışa neden olmuştur (Suvetha vd., 2015). Kortizol düzeylerinde artışlar sırasıyla *Probinsolus lineatus* (Martinez vd., 2004) ve *Oreochromis niloticus* (Monteiro vd., 2005) sırasıyla Pb ve Cu'ya yanıt olarak bildirilmiştir. Borges vd., (2007) *Rhamdia quelen*'de cypermethrin ile indüklenen hipergliseminin stres belirtisi olabileceğini ve kortizol düzeylerindeki artışla ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir. Fırat vd., (2011) tarafından Cu ve cypermethrine maruz kalan *Oreochromis niloticus*'un plazma kortizol seviyesi stresle mücadele için artış gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca Nil tilapia, *Oreochromis niloticus* L., yavru balıklarının glifosatın en yüksek sublethal konsantrasyonlarına maruz kalması ile serum kortizol düzeylerinde artış görülmüştür (Koakoski vd., 2013).

Stresin balıklarda immün sistemi baskıladığı ve bunun uzun vadede balıkları hastalıklara karşı daha savunmasız hale getirebileceği birçok çalışmada gösterilmiştir (Yildiz ve Ergönül, 2010).

Danio rerio larvalarında TNF- α , IL-1 β , IL-6 dahil olmak üzere ana sitokinlerin mRNA seviyeleri, 100 veya 300 mg/L klorpirifosa 96 gün maruz kaldıktan sonra önemli ölçüde artmıştır ve bu sonuç larvada doğuştan gelen bağışıklık sisteminin klorpirifos tarafından bozulmuş olabileceğini belirtmişlerdir (Jin vd., 2015).

Chen vd., (2014) *Cyprinus carpio* balıklarının 40 gün boyunca çeşitli konsantrasyonlarda (1.16, 11.6 ve 116 mg/L) klorpirifosa maruz kalmasının kontrol grubuna göre böbrek ve dalakta IL-6 ve TNF- α sitokinlerinin ekspresyonunu artırdığını gözlemlemişlerdir.

Başka bir çalışmada, Wang vd., (2011) klorpirifosa maruz kalan *Cyprinus carpio* balığındaki IL-1 β düzeyinin artmasının muhtemelen klorpirifosun dalağa ve böbreğe zarar vermesi sonucu olabileceğini bildirmişlerdir.

Organoklorlu bileşiklerin varlığında *Sparus aurata* balığının lökositleri üzerinde yapılan in vitro deneyler, bu hücrelerde pro-inflamatuar sitokinler IL-1 β ve TNF- α 'nın aşırı ekspresyonuna neden olduğunu göstermektedir (Cuesta vd., 2008).

Benzer şekilde, hidrokarbon kirliliği Avrupa levreğinin dalağında TNF- α seviyelerinde artışa neden olmuştur (Bado-Nilles vd., 2011).

Hematolojik parametreler çeşitli kimyasal ajanların akut ya da subkronik etki düzeylerini ortaya koymada sıkça kullanılmaktadır (Adhikari vd., 2004). Hatta hematolojik parametreler olumsuz çevre koşullarının balıklar üzerindeki etkilerinin varlığını, tipini ve şiddetini göstermede kullanılmaktadır (Blaxhall, 1972). Özellikle stres altındaki balıklarda hematolojik parametreleri belirlemek kısa sürede gerçekleşen en ucuz yöntemlerden birisidir (Kavitha, 2010).

Tavares-Dias ve Moraes, (2006) hematolojik ve kan biyokimyasal değerlerindeki değişimlerin, genellikle fizyolojik durumdaki değişimleri yansıttığını bildirmişlerdir. Kan parametreleri, strese girmiş balıklarda fizyolojik bozukluğun ölçümü için kullanılır ve böylece balıktaki hasar seviyesi hakkında bilgi sağlar. Kan karakterlerinin incelenmesi, balık popülasyonlarındaki olumsuz koşulların (hastalık oluşturan koşulların) teşhis ve tahminlerini önemli derecede doğrulayabilir. Balığın mevcut su kültürü uygulamalarıyla ilişkili olanların da dahil olduğu çeşitli tipteki stres faktörlerine maruz kalması, balığın kan değişkenlerinde (hematolojik değişkenlerinde) bazı farklılıklar oluşturabilir (Heath, 1995). Bu hematolojik değişkenler, balık sağlığını belirlemede sıklıkla kullanılır (Martinez ve Souza, 2002). Böylece bu değişkenler, karşılaştırmalı fizyoloji, filogenetik ilişkiler, beslenme şartları ve diğer ekolojik parametreleri daha iyi anlamaya katkı sağlar (Osman vd., 2010).

Toksik maddenin fizyolojik hareketinin bilgisi subletal etkilerin tahmin edilmesine yardımcı olur. Biyokimya, hematoloji ve hispatoloji analizleri toksik maddenin hareketinin modunu belirlemede kullanılabilir. Balıkların birçok kan özellikleri subletal etkilerin yanıtlarının ölçülmesinde yararlanılmıştır. Balığın kan ölçümleri (hematolojik ve biyokimyasal) analizlerinde toksik maddenin açığa çıkması hayvanın yapısal ve işlevsel teşhislerinde önemlidir (Adhikari vd., 2004). RBC ve WBC sayısı Hb gibi hematolojik değişkenler, MCV, MCH ve MCHC gibi hematolojik endeksleri, plazma glukoz ve protein gibi biyokimyasal parametreler genel olarak zehrin önemini belirlemek için kullanılır.

24 saat boyunca 301 µg/L bakıra maruz kalan *Salmo gairdneri*'de büyük ölçüde lenfosit konsantrasyonundaki büyük bir azalmanın sonucu olarak belirgin bir lökopeni gözlemlendiği bildirilmiştir. Aynı zamanda balığın eritrosit sayısında azalma belirlenmiştir (Dick ve Dixon, 1985).

Oncorhynchus mykiss 24 saatlik aralıklarla 21 gün boyunca pestisit cypermethrinin (1/8, 1/4 ve 1/2 LC₅₀, 0,0082 mg/l) sublethal konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. Maruz kalma periyodunun sonunda hematolojik parametrelerin araştırılması sonucunda cypermethrin konsantrasyonu arttıkça RBC hücrelerinde, Hb konsantrasyonunda, MCH, MCHC ve PLT sayısında artışlar olduğu bulunmuştur. Ancak maruz kalma süresi arttıkça, Hct, MCV ve akyuvar hücresi sayısında düşüşler olmuştur (Atamanalp vd., 2002).

Bir glifosat bazlı herbisit olan Roundup Transorb®'ın *Prochilodus lineatus* juvenillerinin 1mg/L Roundup Transorb® ve 5 mg/L Roundup Transorb® konsantrasyonlarına 6, 24 ve 96 saat süresince maruz bırakılmaları sonucunda 24 ve 96 saatlik maruziyet sonrası Roundup Transorb®5 grubundaki balıklarda hematokritte ve eritrosit sayısında belirgin bir artış bulunmuştur. Ayrıca 96 saatlik maruziyetin ardından aynı gruptaki WBC, lenfositlerin ve nötrofillerin sayısındaki azalmada anlamlı bir artış olmuştur (Modesto ve Martinez, 2010).

Saravanan vd., (2011) 1,035 g/L neem yaprak ekstresinin 24 saat boyunca *Cirrhinus mrigala*'ya uygulanması sonucunda Hb, Hct, RBC, MCV, MCH ve MCHC düzeylerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde azaldığını, WBC sayımında ise artış olduğunu bildirmişlerdir.

Atamanalp vd., (2011) *Oncorhynchus mykiss*'in kobalt kloritin 180 µg/L'lik dozuna 8 saat aralıklı uygulamalarla 28 gün maruz bırakılarak hematolojik parametreler üzerine etkilerinin belirlenmesi için yaptıkları çalışmada RBC, WBC, PLT sayısı, Hb düzeyi, eritrosit sedimentasyon oranı ve MCHC değerlerinde artışlar gözlemlendiğini rapor etmişlerdir. Buna karşılık ortalama MCV ve eritrosit başına düşen ortalama Hb miktarı değerlerinde düşüşler belirlemişlerdir. İstatistiksel analizler sonucunda WBC, Hb düzeyi, MCV ve MCH değerlerindeki fark çok önemli, MCHC değerinde önemli, diğerlerinde ise önemsiz olarak değerlendirmişlerdir.

Bir triazole fungusit olan propikonazole gökkuşuğu alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) farklı doz (0,2, 50 ve 500 µg/L) ve farklı sürelerde (7, 20 ve 30 gün) maruz bırakılmışlardır. Kontrol grubuyla kıyaslandığında, kronik sürede propikonazol'e maruz kalan balıkların Hb içeriği, RBC sayısı, Hct ve lökosit sayısında anlamlı bir düşüş değerleri elde edilmiştir. Fakat MCH ve MCHC seviyelerinde ise önemli ölçüde daha yüksek değerler elde edilmiştir. MCV için kaydedilen değerler gruplar arasında önemli bir farkın olmadığını göstermiştir (Li vd., 2011).

Clarias gariepinus 5, 10 ve 15 gün süre ile klorpirifos bazlı Termifos® pestisitinin iki farklı konsantrasyonuna (86 µg/L ve 172 µg/L) maruz bırakılmışlardır. Çalışma sonunda 172 µg/L konsantrasyona maruz kalan balıkların RBC sayılarında ve Hct seviyelerinde azalma gözlenirken her iki konsantrasyona maruz kalan balıkların WBC sayıları azalmış, Hb seviyelerinde ise değişim gözlenmemiştir. Kontrol grubuna göre MCH, MCV ve MCHC değerlerinde anlamlı bir artış tespit edilmiştir (Nwani vd., 2012).

Okomoda vd., (2013) yaptıkları çalışmada farklı konsantrasyonlarda (18,33, 20,93 ve 16,05) Sunsate® herbisitinin, karabalıkların (*Clarias gariepinus*) hematolojik parametreleri üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. Hb miktarı, RBC, PLT sayısı ve Hct değerlerinin artan toksikant konsantrasyonuna bağlı olarak azaldığı tespit edilmiştir.

Pereira vd., (2013) yaptıkları araştırmada 96 saat boyunca üç farklı konsantrasyonlarda (1, 5 ve 10 mg/L) klamazona maruz kalan *Prochilodus lineatus* balıklarının hemoglobin, MCH ve MCHC değerleri 5 mg/L ve 10 mg/L konsantrasyonlu olan gruplarda, Hct değerleri 10 mg/L konsantrasyona maruz kalan grupta azalma göstermiştir. Alyuvar hücre sayısı ise 1 mg/L konsantrasyona maruz kalan grupta artmıştır.

Shahi vd., (2013) sentetik ve bitkisel kökenli pestisitlerin (furadan, rutin, taraxerol ve apigenin) *Channa punctatus*'un hematolojik parametreler üzerine etkisi ile ilgili yaptıkları bir araştırmada, çalışma sonunda 14 gün boyunca farklı subletal doz konsantrasyonlarına maruz kalan balıkların Hb, Hct ve RBC sayısında azalma olduğunu kaydetmişlerdir. Ayrıca pestisitlere maruz kalan balıkların hematolojik indeksler MCH, MCHC ve MCV değerlerinde azalma olduğu rapor edilmiştir.

Cyprinus carpio için LC₅₀'si 22,19 ppm olan glifosat bazlı roundup®'ın 3, 5, 7 ve 14 ppm dozlarının 16 gün boyunca uygulanması sonucunda zamana ve doza bağı olarak MCH ve MCV oranlarının arttığı, Hb, Hct miktarı ile RBC ve WBC kan hücreleri sayısının önemli derecede azaldığı gözlenmiştir (Gholami-Seyedkolaei vd., 2013).

Velisek vd., (2013) *Cyprinus carpio*'da prometrin [2,4-bis (isoprop ylamino)-6-methylthio-s-triazine] herbisitinin etkilerini belirlemek için yaptıkları çalışmada balıkları 14, 30 ve 60 gün süreyle farklı konsantrasyonlarda (0,51, 8 ve 80 µg/L) prometrine maruz bırakmışlardır. 60 gün 8 ve 80 µg/L prometrine maruz kalan balıkların Hb, MCHC ve MCH düzeylerini kontrol grubuna göre daha yüksek tespit etmişlerdir.

Jayaprakash ve Shettu, (2013) tarafından yapılan bir araştırmaya göre, *Channa punctatus* balıklarına 45 gün boyunca iki farklı dozda (0,075 mg/L ve 0,15 mg/L) deltamethrin maruziyeti kontrol balıklarına göre hemoglobin içeriği, RBC sayısı, Hct, MCV, MCHC değerleri üzerinde önemli bir düşüş göstermiştir. Öte yandan, 30 ve 45 günlük düşük ve yüksek konsantrasyonlarda deltamethrin maruziyeti toplam WBC sayısı, MCV, eritrosit sedimantasyon hızı ve pıhtılaşma süresinde önemli bir artışa neden olmuştur.

Vaiyanan vd., (2015) *Cyprinus carpio*'yu sublethal ve 12,50 ppm monocrotophos pestisitine maruz bırakmanın bir sonucu olarak hemoglobin içeriğinde ve Hct seviyesinde bir düşüş gerçekleşirken WBC sayısında önemli bir artış olduğunu rapor etmişlerdir.

Murussi vd., (2016) azadirachtin'in ticari bir formu olan neenmax'ın *Cyprinus carpio* balıklarına 20, 40 ve 60 µL/L uygulaması sonucunda 60 µL/L grubunda RBC, Hb ve Hct dağılımının azaldığını göstermiştir.

Oksijen elektron çekim gücü nedeniyle oldukça reaktif bir moleküldür. O₂'nin H₂O'ya redüksiyonu sırasında çok daha reaktif ara bileşikler oluşabilmektedir. Bu nedenle canlılar oksidatif stresin etkilerinden korunabilmek için antioksidan savunma sistemine sahiptirler. Antioksidan enzimler oksidatif stres tarafından indüklenen bileşenler olup, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon-S transferazlar (GST), katalaz'dan (CAT) oluşmaktadır. O₂ metabolizması

ürünlerinin azaltılması SOD, CAT ve GSH-Px enzimatik hücresel savunma mekanizmalarıyla kontrol edilmektedir.

Sepici vd., (2009) *Cyprinus carpio* yavruları ile yaptıkları bir çalışmada cyfluthrinin subletal dozajına (10 µg/L) 48 saat boyunca balıkları maruz bırakılmasının beyin dokusunda MDA düzeyini arttırdığını rapor etmişlerdir. *Rutilus rutilus* ile yapılan bir çalışmada, farklı sürelerde uygulanan diazinonun CAT aktivitesi üzerine etkisine bakılmış, 24. saatte CAT aktivitesinin artışı adaptasyon olarak belirtilmiş, 48 ve 96. saatlerde ise CAT aktivitesinde azalma olduğu bildirilmiştir (Keramati vd. 2010). Diazinon ile yapılan başka bir çalışmada bu insektisite 15 ve 30 gün maruz kalan *Cyprinus carpio* balıklarının çeşitli dokularındaki enzim aktiviteleri üzerinde etkili olduğu, SOD, CAT ve GSH-Px aktiviteleri ve MDA seviyesinde artışa neden olduğu bildirilmiştir (Oruç ve Usta, 2007). Dorval ve Hontela (2003) yaptıkları çalışmalarında, bir organoklorlu pestisit olan endosulfanın farklı uygulama dozlarının *Oncorhynchus mykiss* enzim aktivitelerine bakmışlar ve bu pestisit CAT, GST ve GSH-Px aktiviteleri ile MDA seviyesini yükselttiğini bildirmişlerdir. Kavitha ve Rao (2008), *Gambusia affinis*'te klorpirifosun bazı antioksidan enzimler üzerine etkisini incelemişlerdir. 96 saatlik uygulama sonucunda kas dokusunda SOD ve CAT enzimlerinin inhibe edildiğini ortaya çıkarmışlardır. Song vd., (2006) tarafından *Cyprinus carpio* ile yapılan çalışmada, heksaklorobenzen maruziyeti sonucunda karaciğerde düşük dozlarda SOD enzim aktivitesinde anlamlı bir değişim olmadığı, yüksek dozlarda ise SOD enzim aktivitesinin azaldığı bildirilmiştir. Peixoto vd., (2006) oksiflorfen etkisinin *Oreochromis niloticus*'ta karaciğer CAT enzim aktivitesini arttırdığını, SOD enzim aktivitesini ise süreye bağlı olarak azalttığını bildirmişlerdir. Ferrari vd., (2007) karbarilin *Oncorhynchus mykiss*'in karaciğer dokularında CAT enzim aktivitesini artırdığını; buna karşılık azinfosmetilin CAT enzim aktivitesini düşürdüğünü bildirmişlerdir.

Balık solungaçları dış çevre ile sürekli temas halinde olmasından dolayı ağır metallerin yüksek birikimine neden olmaktadır (Uysal vd., 2008). Kadmiyumun (Cd) balıklarda, solungaç lamelleri epitelinde erime, hipertropi ve kılcıl damarlarda tıkanma gibi solungaç yapısında patolojik değişikliklere, ayrıca mukus salgılamasını arttırarak doku düzeyinde hipoksiye, glukoneogenez enzimlerle proteazların aktivitesini etkileyerek karbonhidrat ve protein metabolizmasında değişikliklere

neden olduğu belirlenmiştir. Ayrıca eşeyssel olgunlaşmayı engellediği, embriyo ve larva gelişimini yavaşlattığı, karaciğer, testis, beyin ve sinir sisteminde patolojik değişikliklerle iskelette deformasyonlara neden olduğu saptanmıştır (Kuşatan ve Cıık, 2004; Bucioa vd., 1995). Kahverengi alabalıklarla yapılan bir çalışmada; Cd’lu grupta hidrolitik dejenerasyon, vakuol dejenerasyonu, orta ve ikincil lamelin tahribi, epitelyum hücrelerinde hiperplazi görüldüğü rapor edilmiştir. Ayrıca Cd’lu kaslarda intertisyel mononükleer hücre infiltrasyonu da gözlemlenmiştir (Atamanalp, 2013). Aynı balıkta yapılan diğeri bir çalışmada ise Cd’un böbrek epitelyum hücrelerinde dejenerasyon, solungaçta ikinci lamellerde genişleme ve birleşmeye neden olduğu gözlemlenmiştir (Beširović vd., 2010).

Deltamethrin’in *Cyprinus carpio*’nun solungaç ve böbrek dokuları üzerine histopatolojik etkilerinin araştırıldığı bir çalışma yapılmıştır. Balıklar kısa süreliğine (96 h) ve farklı dozlarına (0,029 mg/L=96 saat LC₅₀’nin %50’si ve 0,041 mg/L=96 saat LC₅₀’nin %70’i) maruz bırakılmışlardır. Çalışma sonucunda deltamethrinin tüm dozlarına maruz kalan gruplarda en sık görülen solungaç histopatolojilerinin nekroz ve deskuamasyon (dökülme) olduğu, ikincil katmanlarında anevrizma, ödem, epitelyal hiperplazi ve ikincil lamellerde kaynaşmaların gerçekleştiği bildirilmiştir (Cengiz, 2006).

Altınok ve Çapkın, (2007) *Oncorhynchus mykiss*’in 21 gün boyunca endosülfan’ın 0,60 ve 1,30 µg/L dozlarına maruz kalması sonucu her iki doz grubunda da solungaç ve karaciğer dokularında lezyon gözlemlendiğini bildirmişlerdir.

Çeşitli ağır metallerin tespit edildiği Güney Afrika’daki iki farklı barajdan yakalanan *Clarias gariepinus*’un karaciğerlerinde meydana gelen histopatolojik değişimlerin incelendiği bir çalışmada karaciğer dokularında nekroz artışının meydana geldiği bildirilmiştir (Marchand vd., 2009).

Kompozit inorganik gübrelerin subkronik toksisitesinin gökkuşuğı alabalığı juvenilleri üzerine yapılan bir araştırmada iki haftalık uygulama süresi sonunda solungaç ve karaciğer dokularında histolojik lezyonlar olduğu rapor edilmiştir (Capkın vd., 2009).

Maneb ve karbaril akut toksisitesinin *Oncorhynchus mykiss* juvenillerinin üzerine olan etkisi ile ilgili bir çalışmada, bu pestisitlere maruz kalan balıkların lamellerinde ödem, epitelin lamelden ayrılması, lamellar füzyon, epitel hücrelerinin şişmesi ve epitelyal hücre nekrozu meydana geldiğini bildirmişlerdir. Ayrıca pestisitlere maruz kalan balıkların solungaçlarında lamellar hiperplazi ve karaciğerlerinde inflamasyon ve nekroz gözlenmiştir (Boran vd., 2010).

30 gün süreyle 0,75 ppm dioktil adipat ($C_{22}H_{42}O_4$) uygulamasına maruz bırakılan *Labidochromis caeruleus* karaciğerlerindeki histopatolojik değişimlerin kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında, dioktil adipat'a maruz kalan grupta karaciğerde oluşan en belirgin değişimler çarpıcı bir steatoz (yağlanma), bazı fibröz yapılaşmalar ve genişleyen nekrotik alanlar, ayrıca sinüzoidlerde ve merkezi vende dilatasyon, poikilositoz ve kanama rapor edilmiştir (Üçüncü vd., 2010).

Üçüncü vd., (2010) 0,75 ppm dioktil adipat uygulanan deneme grubundan alınan solungaç doku örnekleri, hiçbir uygulama yapılmayan ve 2,50 ppm aseton uygulanan kontrol grupları ile karşılaştırdığında bu doku örneklerinin hipertofi, ciddi ölçüde hiperplazi, anevrizma, ödem ve çarpıcı füzyon olarak ayırt edilen histopatolojik değişimler gösterdiklerini gözlemlemişlerdir.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. Malzeme

3.1.1. Araştırma birimi

Bu çalışma Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi Akvaryum Sistemi Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi.

3.1.2. Deneyde kullanılan hayvanlar

Araştırmada kullanılacak *Cyprinus carpio* balıkları Orman ve Su İşleri Bakanlığı DSİ 7. Bölge Müdürlüğü 73. Şube Müdürlüğü Yedikır Su Ürünleri İstasyonundan hibe yolu ile temin edilmiştir. Balıklar 250 L'lik akvaryumlara konularak 20 gün boyunca ortama adaptasyonları sağlanmış, bu adaptasyon süresince pelet yemle

beslenmiştir. Deney, doğal ışııkta yarı-statik bir sistemle gerçekleştirildi (12 saat aydınlık-12 saat karanlık). Araştırmada kullanılan *Cyprinus carpio* balıkları bir yaşından küçük olanları seçilmiş ve ortalama ağırlıkları 70-80 g, ortalama uzunlukları ise 15-17 cm olarak belirlenmiştir.

3.1.3. Etik kurul

Bu çalışmanın Etik Kurul onayı Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesinden alınmıştır (29.01.2015 tarih ve 342 sayılı onay yazısı).

3.1.4. Deney düzeneği

Uygulama öncesi 250 L cam akvaryumlara 10'ar adet *Cyprinus carpio* balıkları konularak yirmi gün ortama adaptasyonları sağlanarak şekil 3.1.'deki gibi deney düzeneği kurulmuştur. Deneyde kullanılan AZA dozu Murussi vd., (2015) AZA'nın *Cyprinus carpio* üzerinde davranışsal ve hematolojik parametreleri üzerine yapılan bir çalışmadan türetilmiştir. Deney her gün yenilenmiş ve doz ayarlaması yapılmıştır.

Çizelge 3.1. Deney Düzeneği.

Akut süre (96 saat)	N	Subkronik süre (30 gün)	N
1.Grup: Kontrol Grubu	10	1.Grup: Kontrol Grubu	10
2.Grup: NeemAzal-T/S 1.2 ppm	10	2.Grup: NeemAzal-T/S 1.2 ppm	10
3.Grup: NeemAzal-T/S 2.4 ppm	10	3.Grup: NeemAzal-T/S 2.4 ppm	10

3.1.5. Akvaryum sistemi

Şehir şebeke sisteminden alınan su kaba atıklarından temizlendiği filtreden geçirildikten sonra pH, çözünmüş oksijen ve klor bakımından ayarlandığı filtreden

geçirilerek depolanmış üç gün bekletilip dinlendirildikten sonra pompalar aracılığıyla akvaryumlara aktarılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Akvaryum Sistemi (Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Merkezi Araştırma Laboratuvarı).

Akvaryumlara alınan su üç gün bekletilerek ve hava filtreleri çalıştırılarak ortamın çözülmüş oksijen miktarı ve pH'ı ayarlanmıştır. Daha sonra balıklar oksijen miktarı ve pH'ı ayarlanan akvaryum suyuna alınmıştır. Deneyde kullanılan suyun kalite kriterleri tablo 3.2.'de gösterilmiştir. Deney öncesi ve deney sonrası akvaryum su kalite kriterlerinde (sıcaklık, pH, çözülmüş O₂, çözülmüş askıda katı madde, sertlik) meydana gelen değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 3.2. Deneyde Kullanılan Suyun Kalite Kriterleri.

Su kalite Kriterleri	Deney Grupları					
	Kontrol		1,20 ppm NeemAzal-T/S		2,40 ppm NeemAzal-T/S	
	Deney Öncesi	Deney Sonrası	Deney Öncesi	Deney Sonrası	Deney Öncesi	Deney Sonrası
Su Sıcaklığı (°C)	10,50±0,10	10,40±0,10	10,80±0,30	10,70±0,20	10,30±0,20	10,40±0,10
pH	7,50±0,10	7,70±0,10	7,60±0,20	7,80±0,10	7,60±0,10	7,90±0,20
Çözünmüş O ₂	7,80±0,20	7,10±0,30	7,90±0,20	7,40±0,30	7,40±0,10	7,30±0,20
Çözünmüş Askıda Katı Madde (mg/L)	28,10±1,20	30,60±1,10	29,00±0,70	31,26±0,90	28,50±0,30	31,25±0,70
Sertlik (CaCO ₃) ⁰ dH	150,40±1,10	146,40±1,00	151,10±0,80	147,20±1,10	151,10±0,80	148,70±1,50
Amonyum NH ₄ -N (mg/L)	0,11±0,02	0,15±0,03	0,12±0,02	0,16±0,04	0,12±0,02	0,15±0,02

3.1.6. NeemAzal-T/S

Çalışmamızda kullandığımız NeemAzal-T/S, en çok umut veren neem ürünlerinden biridir. NeemAzal®-T/S, Emülsiyon Konsantre (EC) şeklinde formüle edilmiş olup, tropikal neem ağacı (*Azadirachta indica*) çekirdek özünden elde edilen "AZA A" aktif maddesini içermektedir (10 g/L). Çalışmamızda kullandığımız NeemAzal-T/S, Trifolio-M GMBH Firması tarafından geliştirilerek üretilmiş bir solüsyondur. NeemAzal-T/S solüsyonu çalışmamız için Türkiye'deki dağıtıcısı olan VIT-Verim İnşaat ve Turizm Limited Şirketlerinden tedarik edilmiştir.

3.1.7. Azadirachtin'in uygulama şekli

Balıklar 4 ve 30 gün olmak üzere iki farklı sürede AZA'nın iki farklı dozuna (1,20 ve 2,40 ppm) maruz bırakılmışlardır. 10g/L olan stok solüsyon NeemAzal-T/S solüsyonundan 250 L'lik akvaryumlarda 1,20 ppm ve 2,40 ppm doz AZA olacak şekilde bir miktar AZA solüsyonu alınarak akvaryum suyuna eklenmiştir. Bu deney düzeneği AZA dozlarının sabit olması ve biyodegradasyon sonucu dozların azalmasının engellenmesi için her gün yenilenmiştir.

3.1.8. Kan ve klinik materyallerin alınması

Deney sonrası her gruptan 10'ar balığın kanları “direkt kuyruk kesme yöntemi” ile dorsal aorttan cam tüplere alınmıştır. +4 °C’de ve 5000 rpm’de 5 dakika santrifüj edilen kan örneklerinden serumlar elde edilmiş ve analiz edilene kadar -40 °C’de muhafaza edilmiştir. Doku analizi için diseksiyon sonucu alınan solungaç ve karaciğer doku parçaları takip kasetlerine etiketlenerek konulmuştur. Antioksidan analiz için solungaç ve karaciğer doku parçaları alınarak etiketlenmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Hormon analizi

Hormon analizleri için ELİSA yöntemli ticari kitler kullanılarak belirlenmiştir. Bu kapsamda BH, IGF-1, TSH, tiroid hormonları (ST₃, ST₄, ST₄ ve TT₄), HPI Aks hormonları (ACTH ve kortizol), Sitokinler (TNF- α , IL-1 β ve IL-6) test edilmiştir (Doğru vd., 2014).

3.2.2. Hematolojik ve biyokimyasal analiz

Balıklarda hematolojik analizler veteriner amaçlı Ms4 (Melet Schloesing, Fransa) kan sayım cihazında hazır ticari kitler (Cat. No: WD1153) kullanılmıştır (Orun vd., 2013). Bu bağlamda RBC sayıları, Hb miktarı, Hct değeri, MCV, MCH, MCHC, WBC, lenfosit, monosit ve granülosit oranları tespit edilmiştir.

3.2.3. Antioksidan özelliklerinin incelenmesi

Total protein miktar tayinlerinde Bradford Metodu uygulanmıştır. Total protein miktarları hesaplandıktan sonra, solungaç ve karaciğer doku homojenatlarında lipid peroksidasyonunun bir biyogöstergesi olan MDA miktarının belirlenmesi, Beuge ve Aust, (1978) yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Enzim aktivitelerinin çalışılabilmesi için hazırlanan doku homojenatlarından elde edilen supernatanlarda ise, CAT aktivitesi Luck, (1963), GSH-Px aktivitesi Lawrance ve Burk, (1976) ve

SOD enzim aktivitesi ise McCord ve Frivovich'e, (1969) göre yapılmıştır (Yurekli vd., 2009).

3.2.4. Histopatolojik inceleme

Diseksiyon sonrası alınan solungaç ve karaciğer doku parçaları doku takip kasetleri içerisine konularak etiketlenmiştir. Kasetler en az 24 saat %10'luk formaldehit solüsyonunda fiksasyon için bekletilmiştir. Fiksatiften çıkarılınca 24 saat hafif akan çeşme suyunda yıkanmıştır. Leica TP1020 model doku takip cihazına (Şekil 3.3.) konulan kasetler dehidrasyon, saydamlaştırma ve parafin emdirme işlemleri sonrasında cihazdan çıkarılmıştır (Talas vd., 2014).



Şekil 3.3. Leica TP1020 model doku takip cihazı.

Örnekler, Leica EG1160 model doku bloklama cihazı kullanılarak uygun parafin bloklarda stoklanmıştır (Şekil 3.4.). Leica RM 2125RTS model döner mikrotomda 5-6µ kalınlığında doku kesitler alınarak lama yapıştırılmıştır (Şekil 3.5.). Lamlar

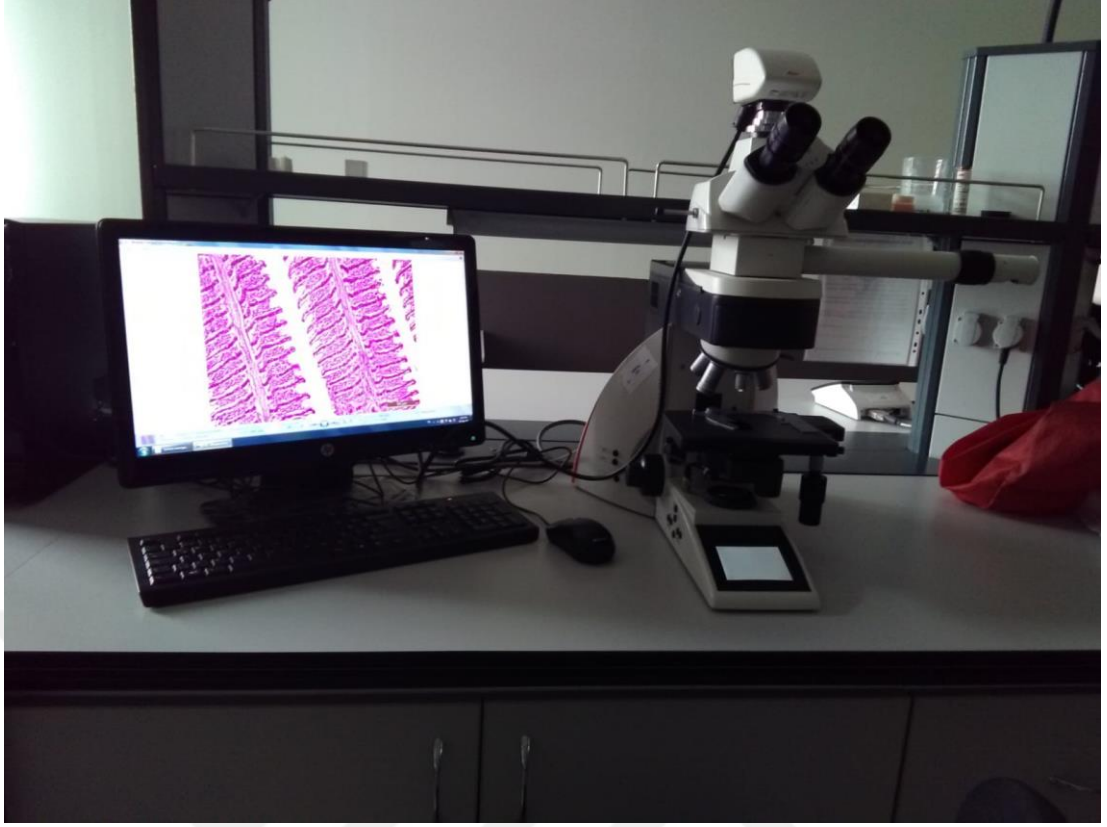
Harris Hematoksilen Eozin boyama yöntemine uygun işlemlerle boyandıktan sonra entellan ile kapatılmıştır. Tüm doku örnekleri Leica DM3000 model ışık mikroskopunda incelenmiştir (Şekil 3.6.).



Şekil 3.4. Leica EG1160 model doku bloklama cihazı.



Şekil 3.5. Leica RM 2125RTS model döner mikrotom.



Şekil 3.6. Leica DM3000 model ışık mikroskobu

3.2.5. İstatistiksel analiz

Çalışma sonunda elde edilen verilerin Van Whitney U ve Kruskal Wals Testine bakılarak, varyans analizleri (ANOVA)'da Duncan's Modeline göre $p < 0,05$ seviyesinde incelenmiştir. Süreler arası karşılaştırmalarda Student-T testi kullanılmıştır ($p < 0,05$).

4. BULGULAR

4.1. Hormonal Parametreler

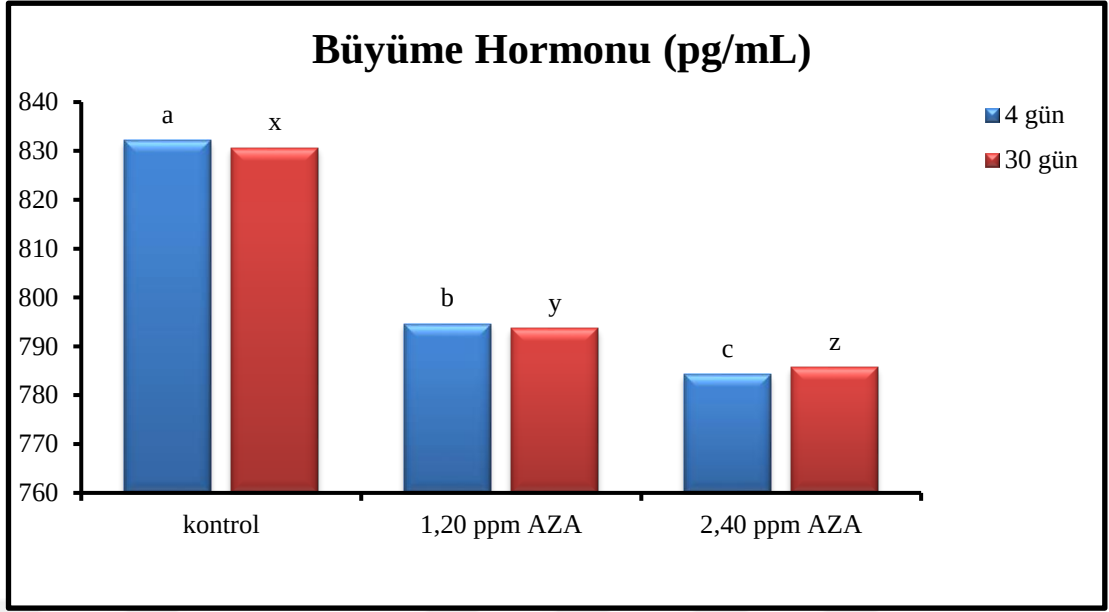
4.1.1. Serum büyüme hormonu (BH) düzeyleri

Cyprinus carpio balıklarına farklı dozlarda (1,20 ppm ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) NeemAzal-T/S (AZA 10 g/L) uygulaması sonucu serum BH seviyelerindeki değişimler Çizelge 4.1.'de gösterilmiştir. Analiz sonucunda, kontrol grubuna göre her iki doz grubunda akut ve subkronik sürede AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* balıklarının serum BH düzeylerindeki azalışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) (Şekil 4.1.). Süreler arası karşılaştırmada ise her iki doz grupları arasında akut ve subkronik sürelerde serum BH düzeyleri aralarında istatistiksel bir fark belirlenmemiştir ($p>0,05$).

Çizelge 4.1. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum BH düzeyleri.

Gruplar	BH (pg/mL)	
	Akut Süre (4 gün)	Subkronik Süre (30 gün)
Kontrol	832,20±1,76 ^a	830,60±1,55 ^a
AZA 1,20 ppm	794,60±1,52 ^b	793,70±0,92 ^b
AZA 2,40 ppm	784,20±2,01 ^c	785,6±1,17 ^c

[a.b.c.]: Her bir sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (n:10).



[a.b.c]: akut sürede gruplar arasındaki; [x.y.z.] ise subkronik sürede gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir ($p < 0,05$).

Şekil 4.1. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum BH düzeyleri.

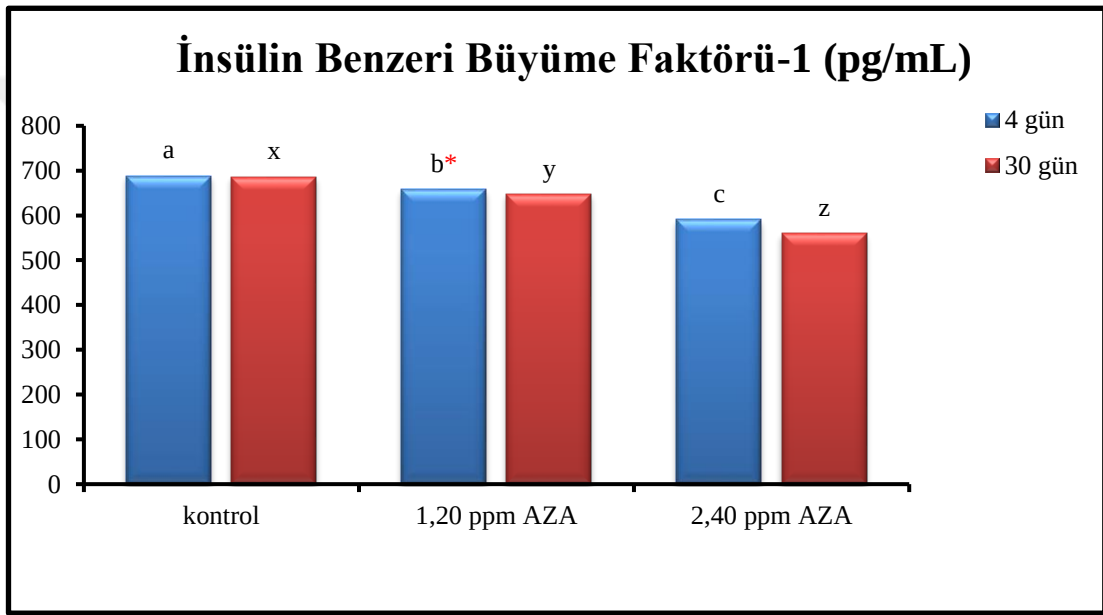
4.1.2. Serum insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) düzeyleri

Cyprinus carpio balıklarına farklı dozlarda (1,20 ppm ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) NeemAzal-T/S (AZA 10 g/L) uygulaması sonucu serum IGF-1 seviyelerindeki değişimler Çizelge 4.2.'de gösterilmiştir. Analiz sonucunda, kontrol grubuna göre her iki doz grubunda akut ve subkronik sürede AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* balıklarının serum IGF-1 düzeylerindeki azalışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$) (Şekil 4.2.). Süreler arası karşılaştırmada ise 1,20 ppm doz grubunda akut ve subkronik sürelerde serum IGF-1 düzeyleri aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,05$).

Çizelge 4.2. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum IGF-1 düzeyleri.

Gruplar	IGF-1 (pg/mL)	
	Akut Süre (4 gün)	Subkronik Süre (30 gün)
Kontrol	688,10±1,05 ^a	686,00±0,70 ^a
AZA 1,20 ppm	656,90±1,20 ^{b*}	647,60±0,92 ^b
AZA 2,40 ppm	590,60±1,34 ^c	560,40±2,92 ^c

[a.b.c.]: Her bir sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (n:10); *: Her satırdaki ortalamalar arası süreye bağlı farklılığı göstermektedir (p<0,05).



[a.b.c.]: akut sürede gruplar arasındaki; [x.y.z.] subkronik sürede gruplar arasındaki; [*]: ise süreler arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (p<0,05).

Şekil 4.2. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum IGF-1 düzeyleri.

4.1.3. Serum tiroid uyarıcı hormon (TSH) düzeyleri

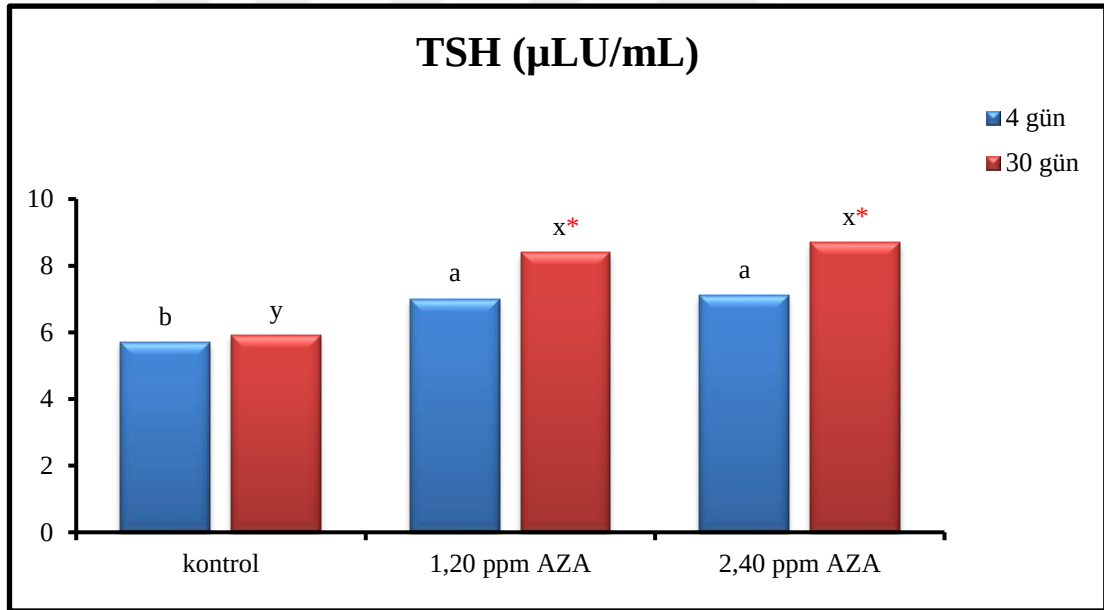
Cyprinus carpio balıklarına farklı dozlarda (1,20 ppm ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) NeemAzal-T/S (AZA 10 g/L) uygulaması sonucu serum tiroid uyarıcı hormonu seviyelerindeki değişimler Çizelge 4.3.'te gösterilmiştir. Analiz sonucunda kontrol grubuna göre serum TSH düzeylerinde meydana gelen artışlar hem akut hem de subkronik sürede doza bağlı olarak istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur

($p<0,05$) (Şekil 4.3.). Süreler arası karşılaştırmada ise her iki doz grubunda akut ve subkronik sürelerde serum TSH düzeylerinde istatistiksel olarak artış anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Çizelge 4.3. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum TSH düzeyleri.

Gruplar	TSH ($\mu\text{LU/mL}$)	
	Akut süre (4 gün)	Subkronik süre (30 gün)
Kontrol	$5,70\pm0,17^b$	$5,90\pm0,17^b$
AZA 1,20 ppm	$7,00\pm0,45^a$	$8,40\pm0,42^{a*}$
AZA 2,40 ppm	$7,10\pm0,28^a$	$8,70\pm0,26^{a*}$

[a.b.]: Her bir sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (n:10); *: Her satırdaki ortalamalar arası süreye bağlı farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).



[a.b.]: akut sürede gruplar arasındaki; [x.y.] subkronik sürede gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir ($p<0,05$).

Şekil 4.3. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum TSH düzeyleri.

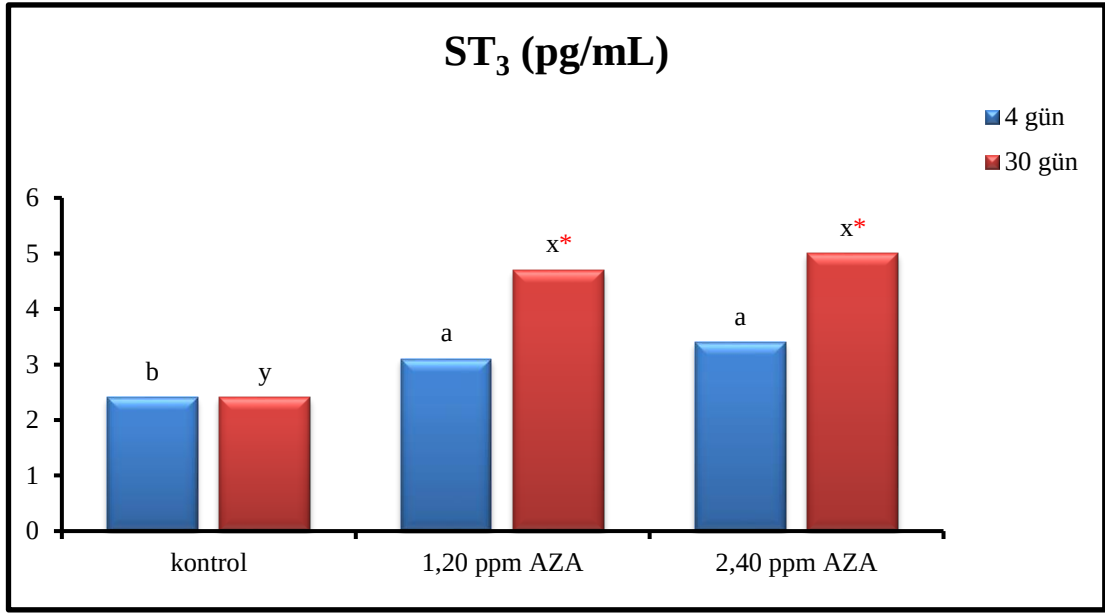
4.1.4. Serum serbest triiyodotronin (ST₃=FT₃) hormon düzeyleri

Cyprinus carpio balıklarına farklı dozlarda (1,20 ppm ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) NeemAzal-T/S (AZA 10 g/L) uygulaması sonucu serum serbest triiyodotronin hormonu seviyelerindeki değişimler Çizelge 4.4.'te gösterilmiştir. Analiz sonucunda kontrol grubuna göre serum ST₃ düzeylerinde meydana gelen artışlar hem akut hem de subkronik sürede doza bağlı olarak istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) (Şekil 4.4.). Süreler arası karşılaştırmada ise her iki doz grubunda akut ve subkronik sürelerde serum ST₃ düzeylerinde istatistiksel olarak artış anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Çizelge 4.4. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum ST₃ düzeyleri.

Gruplar	ST ₃ (pg/mL)	
	Akut Süre (4 gün)	Subkronik Süre (30 gün)
Kontrol	2,40±0,12 ^b	2,40±0,12 ^b
AZA 1,20 ppm	3,10±0,16 ^a	4,70±0,39 ^{a*}
AZA 2,40 ppm	3,40±0,28 ^a	5,00±0,17 ^{a*}

[a.b.]: Her bir sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (n:10); *: Her satırdaki ortalamalar arası süreye bağlı farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).



[a.b.]: akut sürede gruplar arasındaki; [x.y.] subkronik sürede gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir ($p < 0,05$).

Şekil 4.4. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum ST₃ düzeyleri.

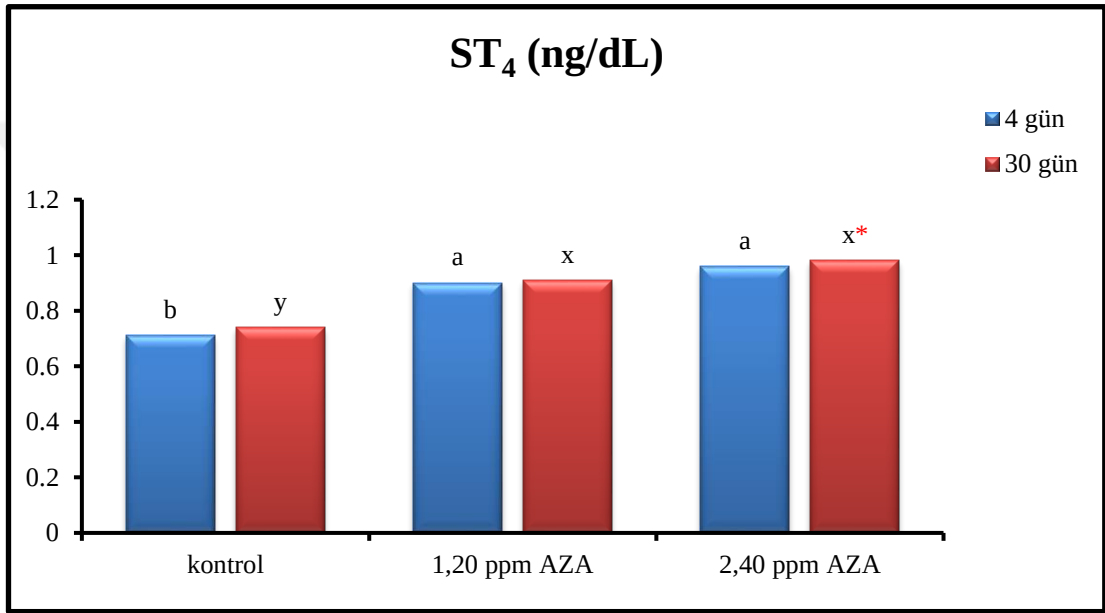
4.1.5. Serum serbest tiroksin (ST₄=FT₄) hormonu düzeyleri

Cyprinus carpio balıklarına farklı dozlarda (1,20 ppm ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) NeemAzal-T/S (AZA 10 g/L) uygulaması sonucu serum serbest tiroksin hormonu seviyelerindeki değişimler Çizelge 4.5.'te gösterilmiştir. Analiz sonucunda kontrol grubuna göre serum ST₄ düzeylerinde meydana gelen artışlar hem akut hem de subkronik sürede doza bağlı olarak istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$) (Şekil 4.5.). Süreler arası karşılaştırmada ise 2.4 ppm doz grubunda akut ve subkronik sürelerde serum ST₄ düzeylerinde istatistiksel olarak artış anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

Çizelge 4.5. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA’ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum ST₄ düzeyleri.

Gruplar	ST ₄ (ng/dL)	
	Akut Süre (4 gün)	Subkronik Süre (30 gün)
Kontrol	0,71±0,04 ^b	0,74±0,03 ^b
AZA 1,20 ppm	0,90±0,07 ^a	0,91±0,05 ^a
AZA 2,40 ppm	0,96±0,04 ^a	0,98±0,07 ^{a*}

[a.b.]: Her bir sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (n:10); *: Her satırdaki ortalamalar arası süreye bağlı farklılığı göstermektedir (p<0,05).



[a.b.] akut sürede gruplar arasındaki; [x.y.] subkronik sürede gruplar arasındaki; [*] ise süreler arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (p<0,05).

Şekil 4.5. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA’ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum ST₄ düzeyleri.

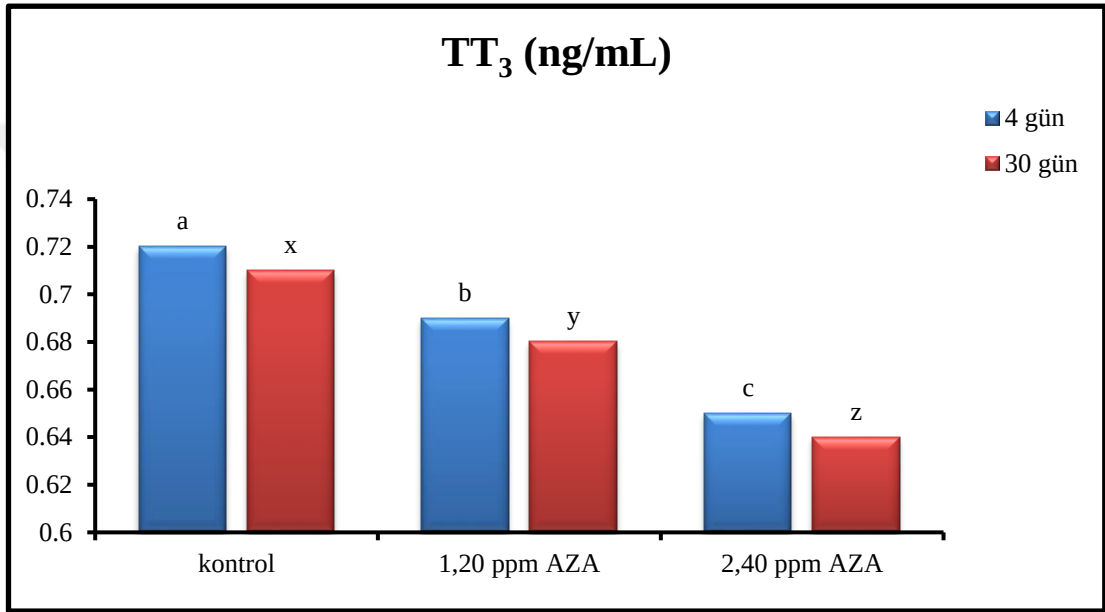
4.1.6. Serum toplam triiyodotronin (TT₃) hormonu düzeyleri

Cyprinus carpio balıklarına farklı dozlarda (1,20 ppm ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) NeemAzal-T/S (AZA 10 g/L) uygulaması sonucu serum toplam triiyodotronin hormonu seviyelerindeki değişimler Çizelge 4.6.’da gösterilmiştir. Analiz sonucunda kontrol grubuna göre serum TT₃ düzeylerinde meydana gelen azalışlar hem akut hem de subkronik sürede doza bağlı olarak istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05) (Şekil 4.6.). Süreler arası karşılaştırmada ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p>0,05).

Çizelge 4.6. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* TT₃ düzeyleri.

Gruplar	TT ₃ (ng/mL)	
	Akut Süre (4 gün)	Subkronik Süre (30 gün)
Kontrol	0,72±0,03 ^a	0,71±0,03 ^a
AZA 1,20 ppm	0,69±0,02 ^b	0,68±0,02 ^b
AZA 2,40 ppm	0,65±0,03 ^c	0,64±0,04 ^c

[a.b.c.]: Her bir sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (n:10).



[a.b.c.] akut sürede gruplar arasındaki; [x.y.z.] ise subkronik sürede gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (p<0,05).

Şekil 4.6. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum TT₃ hormonu düzeyleri.

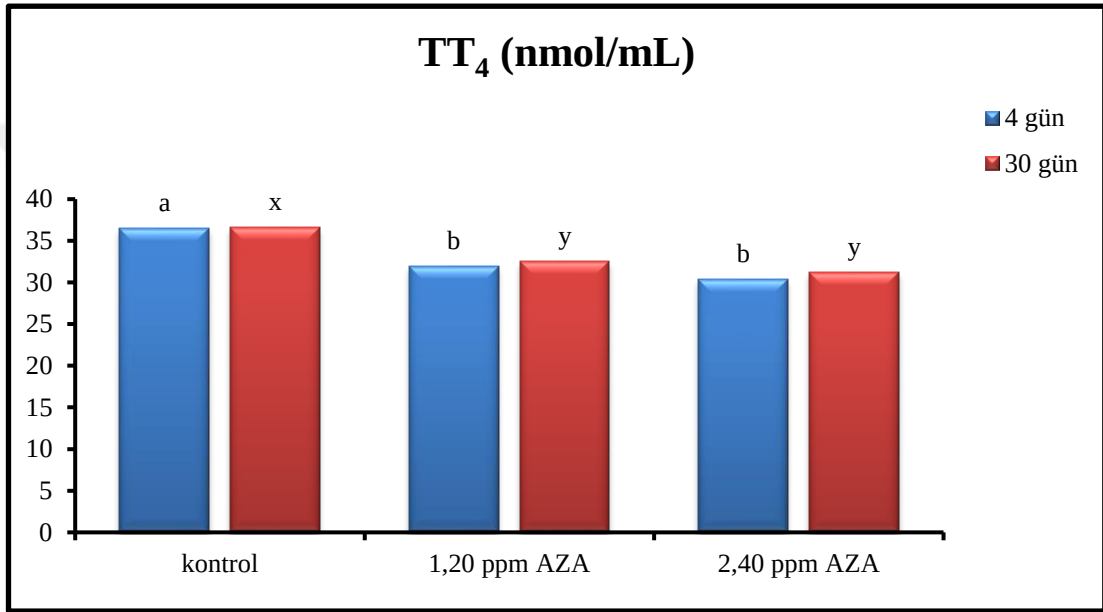
4.1.7. Serum toplam tiroksin (TT₄) hormonu düzeyleri

Cyprinus carpio balıklarına farklı dozlarda (1,20 ppm ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) NeemAzal-T/S (AZA 10 g/L) uygulaması sonucu serum toplam tiroksin hormonu seviyelerindeki değişimler Çizelge 4.7.'de gösterilmiştir. Analiz sonucunda kontrol grubuna göre serum TT₄ düzeylerinde meydana gelen azalışlar hem akut hem de subkronik sürede doza bağlı olarak istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05) (Şekil 4.7.). Süreler arası karşılaştırmada ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p>0,05).

Çizelge 4.7. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA’ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum TT₄ düzeyleri.

Gruplar	TT ₄ (nmol/mL)	
	Akut Süre (4 gün)	Subkronik Süre (30 gün)
Kontrol	36,50±1,48 ^a	36,60±1,42 ^a
AZA 1,20 ppm	31,90±1,40 ^b	32,50±1,35 ^b
AZA 2,40 ppm	30,40±1,15 ^b	31,20±1,05 ^b

[a.b.]: Her bir sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (n:10).



[a.b.] akut sürede gruplar arasındaki; [x.y.] ise subkronik sürede gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (p<0.05).

Şekil 4.7. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA’ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum TT₄ hormonu düzeyleri.

4.1.8. Serum adrenokortikotropik hormonu (ACTH) düzeyleri

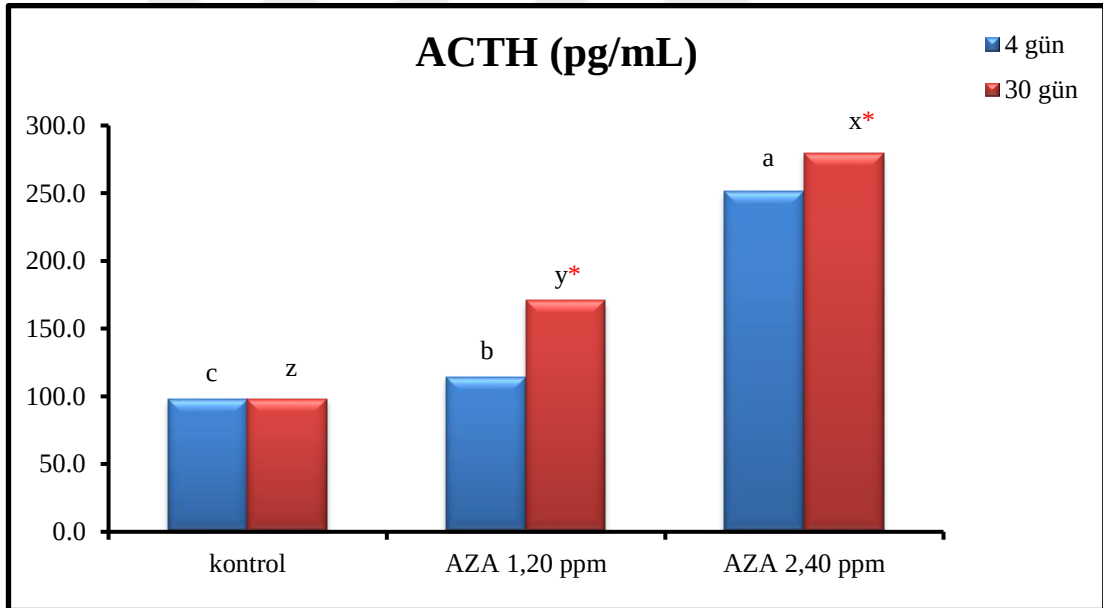
Cyprinus carpio balıklarına farklı dozlarda (1,20 ppm ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) NeemAzal-T/S (AZA 10 g/L) uygulaması sonucu serum adrenokortikotropik hormonu seviyelerindeki değişimler Çizelge 4.8.’de gösterilmiştir. Analiz sonucunda, kontrol grubuna göre serum ACTH düzeylerinde hem akut hem de subkronik sürede istatistiksel olarak anlamlı bir artma belirlenmiştir (p<0,05) (Şekil 4.8.). Süreler arası karşılaştırmada ise her iki doz grupları arasında

akut ve subkronik sürelerde serum ACTH düzeylerinde istatistiksel olarak artış, anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Çizelge 4.8. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum ACTH düzeyleri.

Gruplar	ACTH (pg/mL)	
	Akut Süre (4 gün)	Subkronik Süre (30 gün)
Kontrol	98,10±2,78 ^c	98,20±2,64 ^c
AZA 1,20 ppm	114,30±3,41 ^b	170,80±4,76 ^{b*}
AZA 2,40 ppm	251,30±4,74 ^a	279,20±5,70 ^{a*}

[a.b.c.]: Her bir sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (n:10); *: Her satırdaki ortalamalar arası süreye bağlı farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).



[a.b.c.] akut sürede gruplar arasındaki; [x.y.z.] subkronik sürede gruplar arasındaki; [*] ise süreler arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir ($p<0,05$).

Şekil 4.8. Farklı dozlarda (1.2 ve 2.4 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum ACTH düzeyleri.

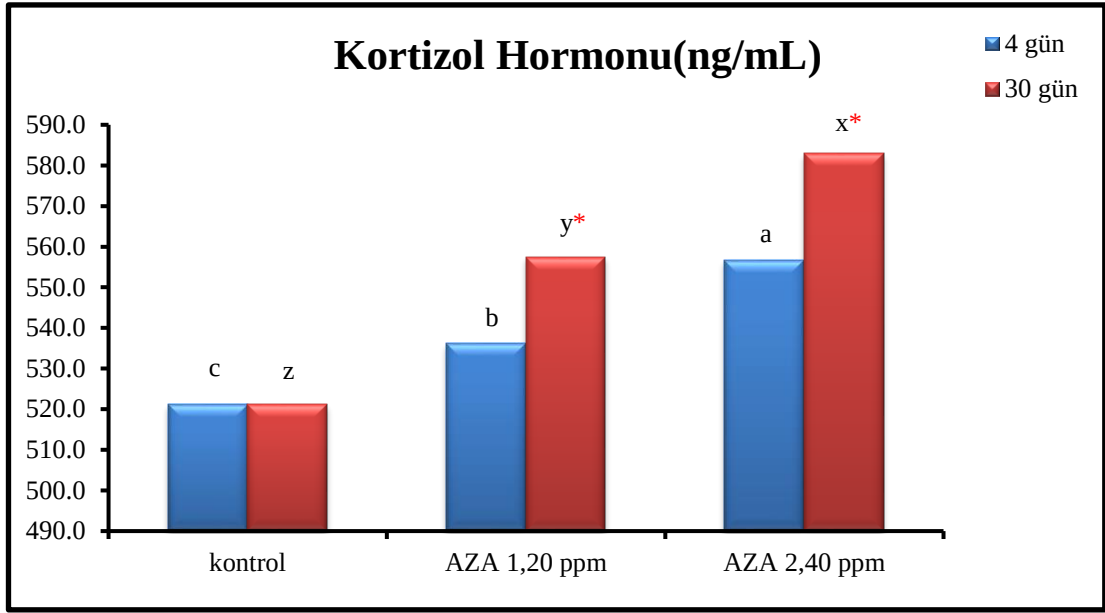
4.1.9. Serum kortizol hormonu düzeyleri

Cyprinus carpio balıklarına farklı dozlarda (1,20 ppm ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) NeemAzal-T/S (AZA 10 g/L) uygulaması sonucu serum kortizol hormonu seviyelerindeki değişimler Çizelge 4.9.'da gösterilmiştir. Analiz sonucunda, kontrol grubuna göre kortizol düzeylerinde hem akut hem de subkronik sürede istatistiksel olarak anlamlı bir artma belirlenmiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.9.). Süreler arası karşılaştırmada ise her iki doz grupları arasında akut ve subkronik sürelerde serum kortizol düzeylerinde istatistiksel olarak artış, anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Çizelge 4.9. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum kortizol düzeyleri.

Gruplar	Kortizol (ng/mL)	
	Akut Süre (4 gün)	Subkronik Süre (30 gün)
Kontrol	521,20±4,11 ^c	521,20±4,11 ^c
AZA 1.,20 ppm	536,20±2,39 ^b	557,50±3,67 ^{b*}
AZA 2,40 ppm	556,80±5,27 ^a	582,90±3,90 ^{a*}

[a.b.c.]: Her bir sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (n:10); *: Her satırdaki ortalamalar arası süreye bağlı farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).



[a.b.c]: akut sürede [x.y.z.] subkronik sürede gruplar arası [*]: süreler arası istatistiksel farkı göstermektedir ($p < 0,05$).

Şekil 4.9. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum kortizol düzeyleri.

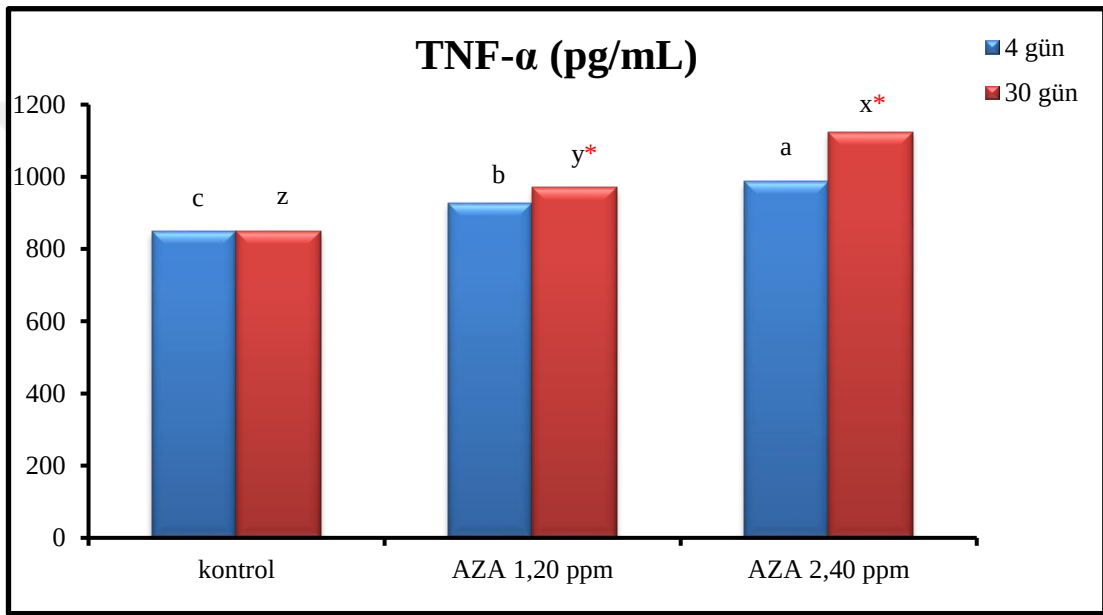
4.1.10. Serum tümör nekroz faktör- α (TNF- α) düzeyleri

Cyprinus carpio balıklarına farklı dozlarda (1,20 ppm ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) NeemAzal-T/S (AZA 10 g/L) uygulaması sonucu serum tümör nekroz faktör (TNF- α) seviyelerindeki değişimler Çizelge 4.10.'da gösterilmiştir. Analiz sonucunda, kontrol grubuna göre TNF- α düzeylerinde her iki doz grubunda da akut ve subkronik sürede artma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$) (Şekil 4.10.). Süreler arası karşılaştırmada ise her iki doz grupları arasında akut ve subkronik sürelerde serum TNF- α düzeylerinde istatistiksel olarak artış anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

Çizelge 4.10. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum TNF- α düzeyleri.

Gruplar	TNF- α (pg/mL)	
	Akut Süre (4 gün)	Subkronik Süre (30 gün)
Kontrol	848,60 $\pm$ 12,25 ^c	848,60 $\pm$ 12,25 ^c
AZA 1,20 ppm	928,00 $\pm$ 11,84 ^b	970,20 $\pm$ 13,06 ^{b*}
AZA 2,40 ppm	987,00 $\pm$ 10,49 ^a	1124,3 $\pm$ 13,32 ^{a*}

[a.b.c.]: Her bir sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (n:10); *: Her satırdaki ortalamalar arası süreye bağlı farklılığı göstermektedir (p<0,05).



[a.b.c.] akut sürede gruplar arasındaki; [x.y.z.] subkronik sürede gruplar arasındaki; [*] ise süreler arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (p<0,05).

Şekil 4.10. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum TNF- α düzeyleri.

4.1.11. Serum interlökin-1beta (IL-1 β) düzeyleri

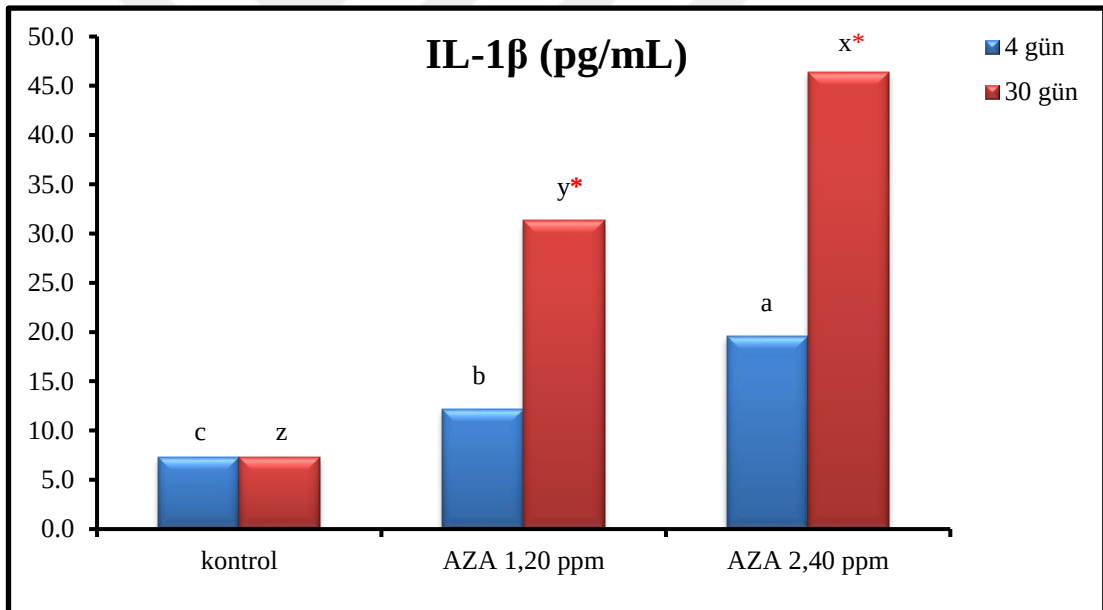
Cyprinus carpio balıklarına farklı dozlarda (1,20 ppm ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) NeemAzal-T/S (AZA 10 g/L) uygulaması sonucu serum interlökin 1-beta (IL-1 β) seviyelerindeki değişimler Çizelge 4.11.'de gösterilmiştir. Analiz sonucunda, kontrol grubuna göre IL-1 β düzeylerinde her iki doz grubunda da akut ve subkronik sürede artma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05) (Şekil 4.11.). Süreler

arası karşılaştırmada ise her iki doz grupları arasında akut ve subkronik sürelerde serum IL-1 β düzeylerinde istatistiksel olarak artış anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Çizelge 4.11. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum IL-1 β düzeyleri.

Gruplar	IL-1 β (pg/mL)	
	Akut Süre (4 gün)	Subkronik Süre (30 gün)
Kontrol	7,30 $\pm$ 0,43 ^c	7,30 $\pm$ 0,43 ^c
AZA 1,20 ppm	12,20 $\pm$ 0,51 ^b	31,30 $\pm$ 4,49 ^{b*}
AZA 2,40 ppm	19,60 $\pm$ 0,65 ^a	46,40 $\pm$ 5,41 ^{a*}

[a.b.c.]: Her bir sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (n:10); *: Her satırdaki ortalamalar arası süreye bağlı farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).



[a.b.c.] akut sürede gruplar arasındaki; [x.y.z.] subkronik sürede gruplar arasındaki; [*] ise süreler arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir ($p<0,05$).

Şekil 4.11. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum IL-1 β düzeyleri.

4.1.12. Serum interlökin-6 (IL-6) düzeyleri

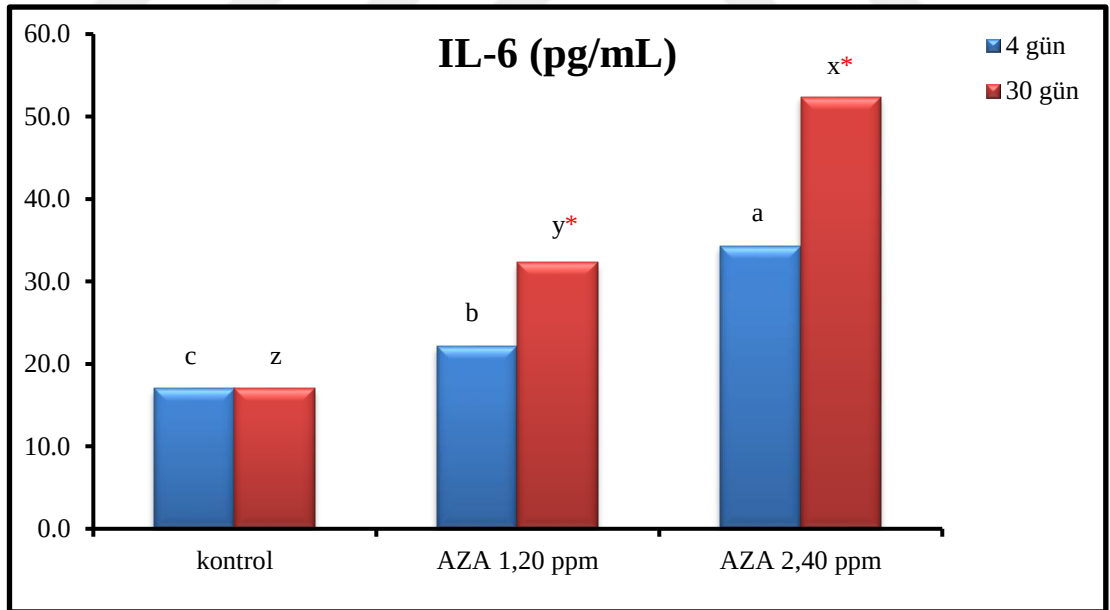
Cyprinus carpio balıklarına farklı dozlarda (1,20 ppm ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) NeemAzal-T/S (AZA 10 g/L) uygulaması sonucu serum interlökin-6 (IL-

6) seviyelerindeki değişimler Çizelge 4.12.'de gösterilmiştir. Analiz sonucunda kontrol grubuna göre IL-6 düzeylerinde her iki doz grubunda da akut ve subkronik sürede artma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) (Şekil 4.12.). Süreler arası karşılaştırmada ise her iki doz grupları arasında akut ve subkronik sürelerde serum IL-6 düzeylerinde istatistiksel olarak artış anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Çizelge 4.12. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum IL-6 düzeyleri.

Gruplar	IL-6 (pg/mL)	
	Akut Süre (4 gün)	Subkronik Süre (30 gün)
Kontrol	17,00±0,83 ^c	17,00±0,83 ^c
AZA 1,20 ppm	22,10±0,87 ^b	32,3±2,39 ^{b*}
AZA 2,40 ppm	34,30±0,79 ^a	52,4±2,45 ^{a*}

[a.b.c.]: Her bir sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (n:10); *: Her satırdaki ortalamalar arası süreye bağlı farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).



[a.b.c.] akut sürede gruplar arasındaki; [x.y.z.] subkronik sürede gruplar arasındaki; [*] ise süreler arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir ($p<0,05$).

Şekil 4.12. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* serum IL-6 düzeyleri.

4.2. Hematolojik parametreler

Akut ve subkronik (4 ve 30 gün) sürede ve farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* balığındaki hematolojik parametrelerde meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.13.'te gösterilmiştir. Kontrol grubuna göre sadece AZA 2,40 ppm doz grubunda Total WBC ve granülosit oranlarında meydana gelen azalmalar ile lenfosit oranlarında meydana gelen artmalar istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Monosit oranlarında ise istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Ayrıca süreye bağlı karşılaştırmalarda WBC, lenfosit ve granülosit oranlarındaki artış subkronik fazda ve sadece 2,4 ppm'lik doz grubunda istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Kontrol grubuna göre RBC sayıları, Hb miktarı ve Hct değerlerinde meydana gelen azalmalar sadece 2,40 ppm grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ayrıca süreye bağlı karşılaştırmalarda yine 2,40 ppm doz grubunda Hb ve Hct değerleri arasındaki farkta istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Kontrol grubuna göre MCV ve MCH değerleri sadece 2,40 ppm doz gruplarında hem akut hem de subkronik sürede istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalma gösterirken MCHC seviyesinde ise artma görülmüştür ($p<0,05$).

Çizelge 4.13. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* hematolojik parametreler.

Hematolojik parametreler	Uygulama süresi (Gün)	Deney Grupları		
		Kontrol	AZA 1,20 ppm	AZA 2,40 ppm
Eritrosit sayıları (RBC) mm ³ /10 ⁶	4	1,30±0,02 ^a	1,29±0,03 ^a	1,15±0,02 ^{b*}
	30	1,31±0,03 ^a	1,30±0,02 ^a	1,02±0,02 ^b
Hemoglobin miktarı (Hb)g/dL	4	9,70±0,10 ^a	9,80±0,12 ^a	8,00±0,14 ^{b*}
	30	9,70±0,12 ^a	9,70±0,14 ^a	7,20±0,18 ^b
Hematokrit değeri (Hct) %	4	35,70±1,14 ^a	35,50±1,18 ^a	27,10±1,24 ^{b*}
	30	35,60±1,17 ^a	36,20±1,20 ^a	23,80±1,15 ^b
MCV	4	274,60±3,20 ^a	275,10±2,60 ^a	235,60±4,10 ^b
	30	271,70±2,80 ^a	278,40±2,75 ^a	233,30±5,20 ^b
MCH	4	74,60±1,68 ^a	75,90±1,60 ^a	69,50±1,25 ^b
	30	74,00±1,90 ^a	74,60±1,45 ^a	70,50±1,10 ^b
MCHC	4	27,10±0,80 ^b	27,60±0,70 ^b	29,50±0,80 ^a
	30	27,20±0,90 ^b	26,40±0,60 ^b	30,20±0,90 ^a
Total lökosit (WBC) (mm ³ /10 ³)	4	10,70±0,21 ^a	10,20±0,21 ^a	8,30±0,24 ^b
	30	10,80±0,18 ^a	10,30±0,19 ^a	7,10±0,22 ^{b*}
Lenfosit %	4	64,50±1,32 ^b	63,40±1,26 ^b	71,50±1,42 ^a
	30	65,10±1,25 ^b	66,70±1,52 ^b	75,5±1,35 ^{a*}
Monosit %	4	3,00±0,14	3,00±0,15	2,90±0,11
	30	3,10±0,15	3,10±0,16	2,90±0,10
Granülosit %	4	32,50±0,78 ^b	33,60±1,57 ^b	25,60±1,15 ^{c*}
	30	31,80±0,55 ^b	30,20±1,42 ^b	21,60±1,12 ^c

[a.b.c.]: Her bir sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (n:10); *Her satırdaki ortalamalar arası süreye bağlı farklılığı göstermektedir (p<0,05).

4.3. Antioksidan Parametreler

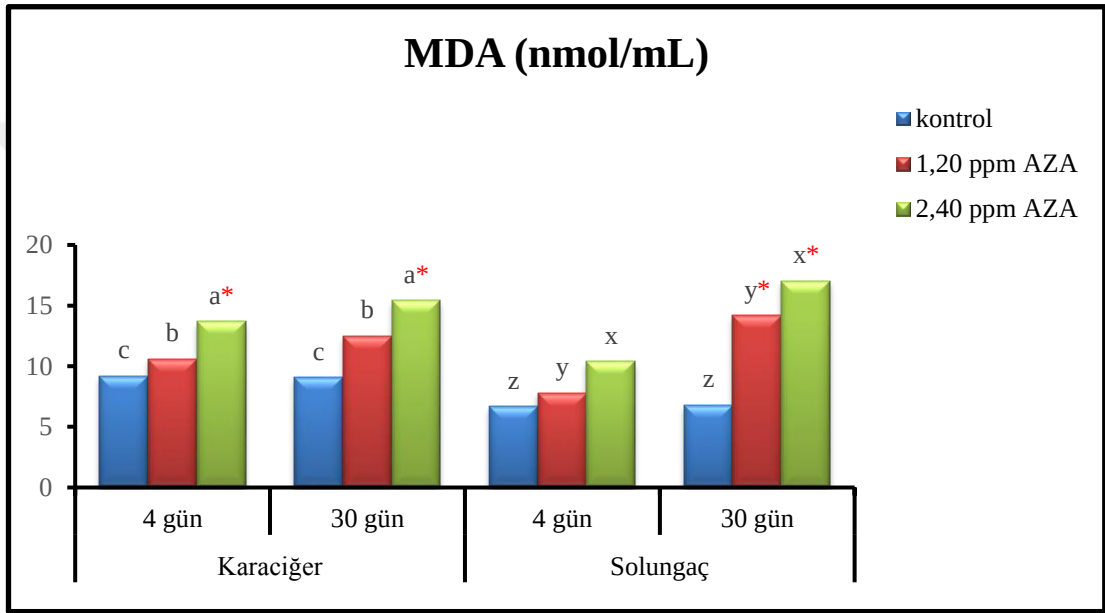
4.3.1. Malondialdehit (MDA) düzeyleri

AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* balıklarının karaciğer ve solungaç dokularında lipid MDA seviyelerindeki değişimler Çizelge 4.14'te gösterilmiştir. AZA maruziyetinde karaciğer ve solungaç dokularında MDA seviyeleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artma göstermiştir (p<0,05). Süreye bağlı olarak karaciğer dokusundaki AZA 2,40 ppm doz grubunda meydana gelen artma, solungaç dokusunda ise her iki doz grubunda meydana gelen artma istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (p<0,05) (Şekil 4.13.).

Çizelge 4.14. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* MDA düzeyleri (nmol/mL).

Doku	Kontrol	AZA 1,20 ppm	AZA 2,40 ppm
Karaciğer (4 gün)	9,25±0,31 ^c	10,66 ± 0,57 ^b	12,98 ± 0,38 ^a
Karaciğer (30 gün)	9,25±0,31 ^c	10,53 ± 0,45 ^b	14,39 ± 0,55 ^{a*}
Solungaç (4 gün)	6,97±0,18 ^z	7,17 ± 0,44 ^y	8,48 ± 1,57 ^x
Solungaç (30 gün)	6,97±0,18 ^z	14,27 ± 6,74 ^{y*}	17,03 ± 6.37 ^{x*}

[a.b.c.]: Her bir sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (n:10); *: Her satırdaki ortalamalar arası süreye bağlı farklılığı göstermektedir (p<0,05).



[a.b.c.]: karaciğer dokuda; [x.y.z.]: solungaç dokuda gruplar arası farkı; * süreler arasında istatistiksel farkı göstermektedir (p<0,05).

Şekil 4.13. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* MDA düzeyleri (nmol/mL).

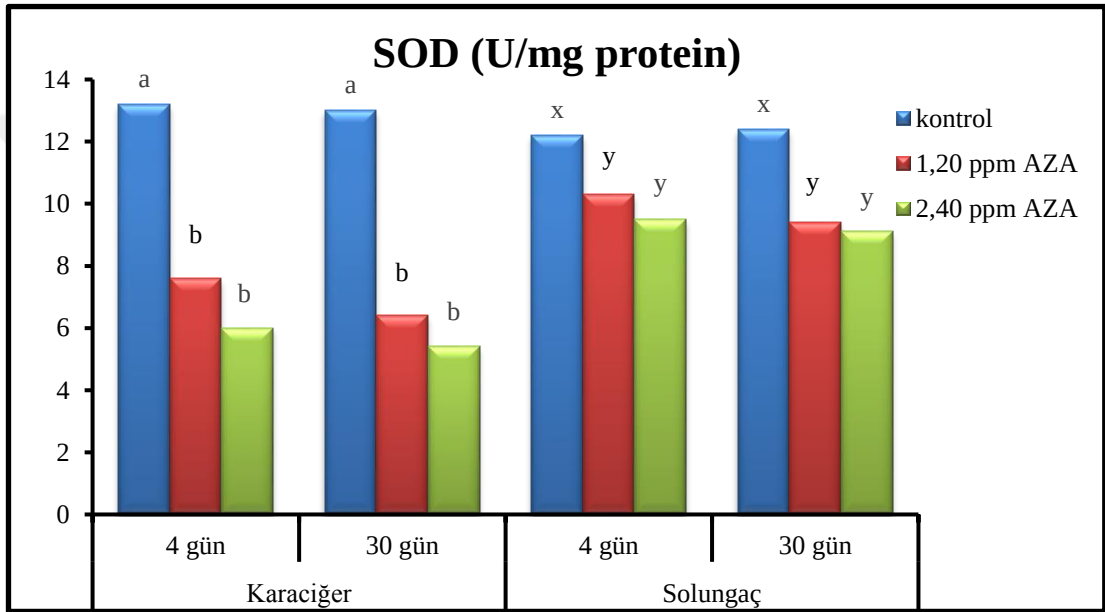
4.3.2. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivite düzeyleri

AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* balıkları karaciğer ve solungaç dokularında SOD enzim aktivelerinde meydana gelen değişimler Çizelge 4.15'te gösterilmiştir. AZA maruziyetinde karaciğer ve solungaç dokularında SOD enzim aktiveleri kontrol grubuna göre, her iki doz grubunda da istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalma göstermiştir (p<0,05). Süreye bağlı olarak hem karaciğer hem de solungaç dokularında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (p>0,05) (Şekil 4.14.).

Çizelge 4.15. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* SOD enzim aktivite düzeyleri (U/mg protein).

Doku	Kontrol	AZA 1,20 ppm	AZA 2,40 ppm
Karaciğer (4 gün)	13,29 ± 1,08 ^a	7,34 ± 1,62 ^b	7,94 ± 1,19 ^b
Karaciğer (30 gün)	13,29 ± 1,08 ^a	7,11 ± 1,25 ^b	7,91 ± 0,76 ^b
Solungaç (4 gün)	12,81 ± 1,45 ^x	10,33 ± 0,97 ^y	9,56 ± 0,95 ^y
Solungaç (30 gün)	12,81 ± 1,45 ^x	9,40 ± 0,97 ^y	9,15 ± 0,73 ^y

[a.b.]: karaciğer dokuda; [x.y.]: solungaç dokuda gruplar arası farkı göstermektedir (p<0,05).



[a.b.c]: karaciğer dokuda; [x.y.z.]: solungaç dokuda gruplar arası istatistiksel farkı göstermektedir (p<0,05).

Şekil 4.14. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* SOD enzim aktivite düzeyleri (U/mg protein).

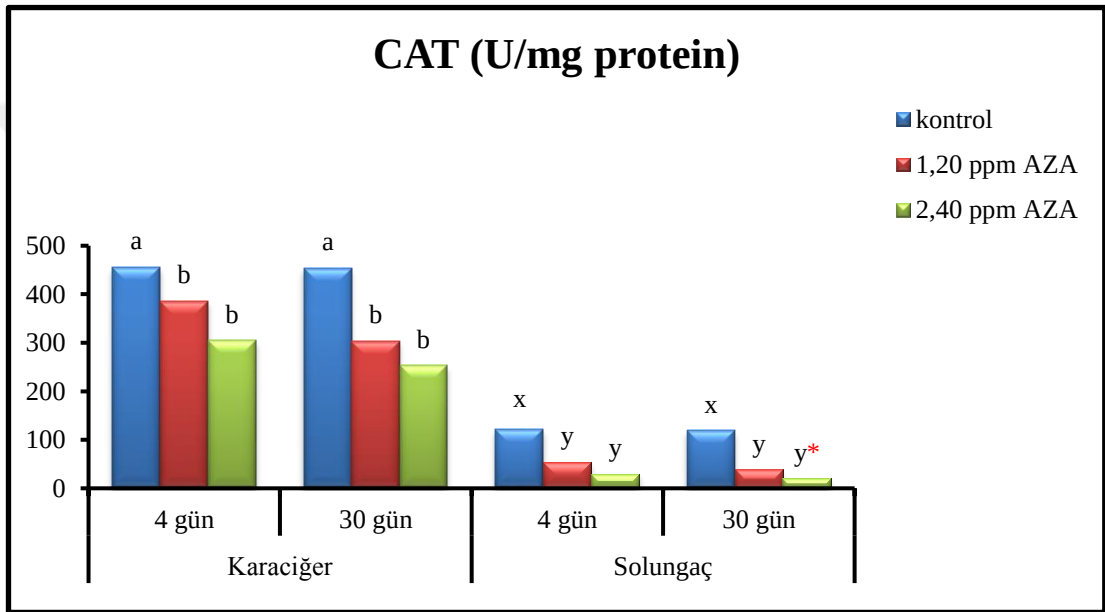
4.3.3. Katalaz (CAT) enzim aktivite düzeyleri

AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* balıklarının karaciğer ve solungaç dokularında CAT enzim aktivelerinde meydana gelen değişimler Çizelge 4.16'da gösterilmiştir. AZA maruziyetinde karaciğer ve solungaç dokularında CAT enzim aktiveleri kontrol grubuna göre her iki doz grubunda da istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalma göstermiştir (p<0,05). Süreye bağlı olarak subkronik sürede sadece solungaç dokuda 2,40 ppm AZA grubunda meydana gelen azalış akut süreye göre anlamlı bulunmuştur (p<0,05) (Şekil 4.15.).

Çizelge 4.16. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* CAT enzim aktivite düzeyleri (U/mg protein).

Doku	Kontrol	AZA 1,20 ppm	AZA 2,40 ppm
Karaciğer (4 gün)	456,18 ± 18,92 ^a	286,25 ± 66,59 ^b	304,49 ± 31,70 ^b
Karaciğer (30 gün)	456,18 ± 18,92 ^a	303,85 ± 38,61 ^b	283,69 ± 77,37 ^b
Solungaç (4 gün)	20,24 ± 4,62 ^x	2,42 ± 0,67 ^y	1,92 ± 0,26 ^y
Solungaç (30 gün)	20,24 ± 4,62 ^x	2,86 ± 0,63 ^y	2,78 ± 0,48 ^{y*}

[a.b.]: karaciğer dokuda; [x.y.]: solungaç dokuda gruplar arası farkı; * süreler arasında istatistiksel farkı göstermektedir (p<0,05).



[a.b.]: karaciğer dokuda; [x.y.]: solungaç dokuda gruplar arası farkı; * süreler arasında istatistiksel farkı göstermektedir (p<0,05).

Şekil 4.15. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* CAT enzim aktivite düzeyleri (U/mg protein).

4.3.3. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktivite düzeyleri

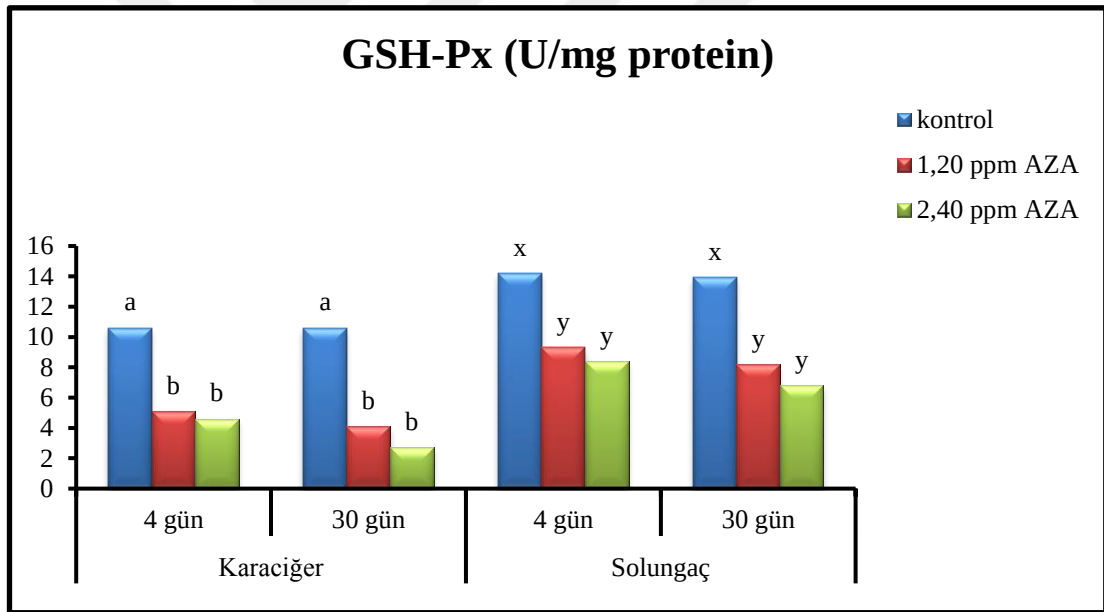
AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* balıkları karaciğer ve solungaç dokularındaki GSH-Px enzim aktivelerinde meydana gelen değişimler Çizelge 4.17'de gösterilmiştir. AZA maruziyetindeki karaciğer ve solungaç dokularında GSH-Px enzim aktiveleri kontrol grubuna göre her iki doz grubunda da istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalma göstermiştir (p<0,05). Süreye bağlı olarak hem karaciğer

hem de solungaç dokularında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.16.).

Çizelge 4.17. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* GSH-Px enzim aktivite düzeyleri (U/mg protein).

Doku	Kontrol	AZA 1,20 ppm	AZA 2,40 ppm
Karaciğer (4 gün)	10,68 ± 2,87 ^a	3,65 ± 2,26 ^b	5,62 ± 2,10 ^b
Karaciğer (30 gün)	10,68 ± 2,87 ^a	6,47 ± 4,34 ^b	5,17 ± 1,88 ^b
Solungaç (4 gün)	14,21 ± 2,46 ^x	9,34 ± 1,85 ^y	10,41 ± 1,24 ^y
Solungaç (30 gün)	14,21 ± 2,46 ^x	8,55 ± 1,58 ^y	9,38 ± 2,93 ^y

[a.b.]: karaciğer dokuda; [x.y.]: solungaç dokuda gruplar arası istatistiksel farkı göstermektedir ($p<0,05$).



[a.b.]: karaciğer dokuda; [x.y.]: solungaç dokuda gruplar arası istatistiksel farkı göstermektedir ($p<0,05$).

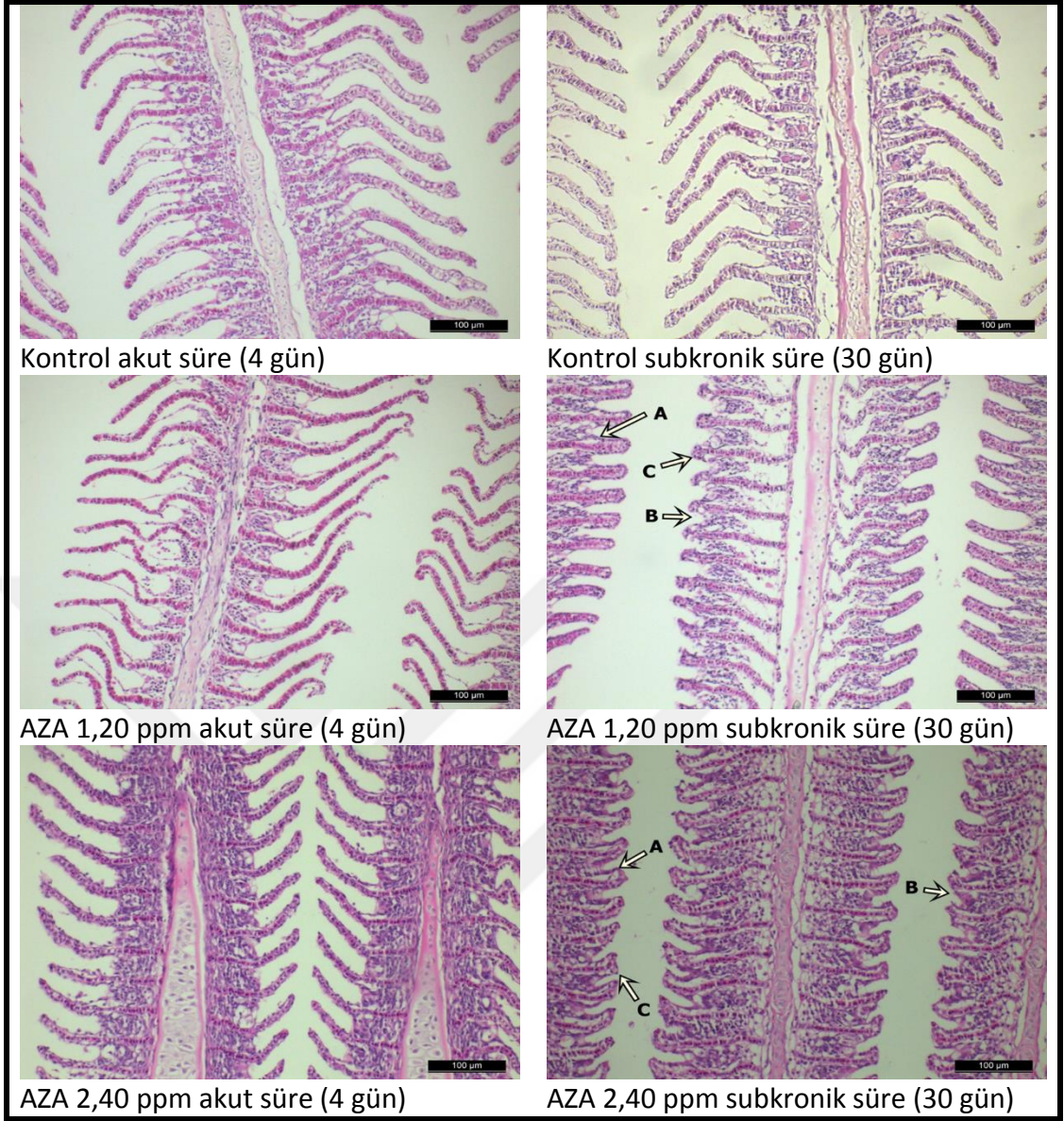
Şekil 4.16. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* GSH-Px enzim aktivite düzeyleri (U/mg protein).

4.4. Histopatolojik Sonuçlar

4.4.1. Solungaç histopatoloji sonuçları

Akut sürede (4 gün) AZA'nın tüm dozlarındaki solungaç dokularında kontrol grubuna göre önemli bir farklılık gözlenememiştir. Subkronik sürede (30 gün) ise sekonder lamellerde epitel ayrılması, lamellerde düzleşme, lamellerde kısalmanın doza bağlı olarak arttığı gözlenmiştir. Elde edilen veriler sonucunda kısa sürede maddenin olumsuz etkilerinin dokularda gözlenemediği, sürenin uzaması ile maddenin zararına karşı solungaçlarda temas yüzeyinin azaltılmasına yönelik lamellerde düzleşme ve kısalma gözlenmiştir (Şekil 4.17.).



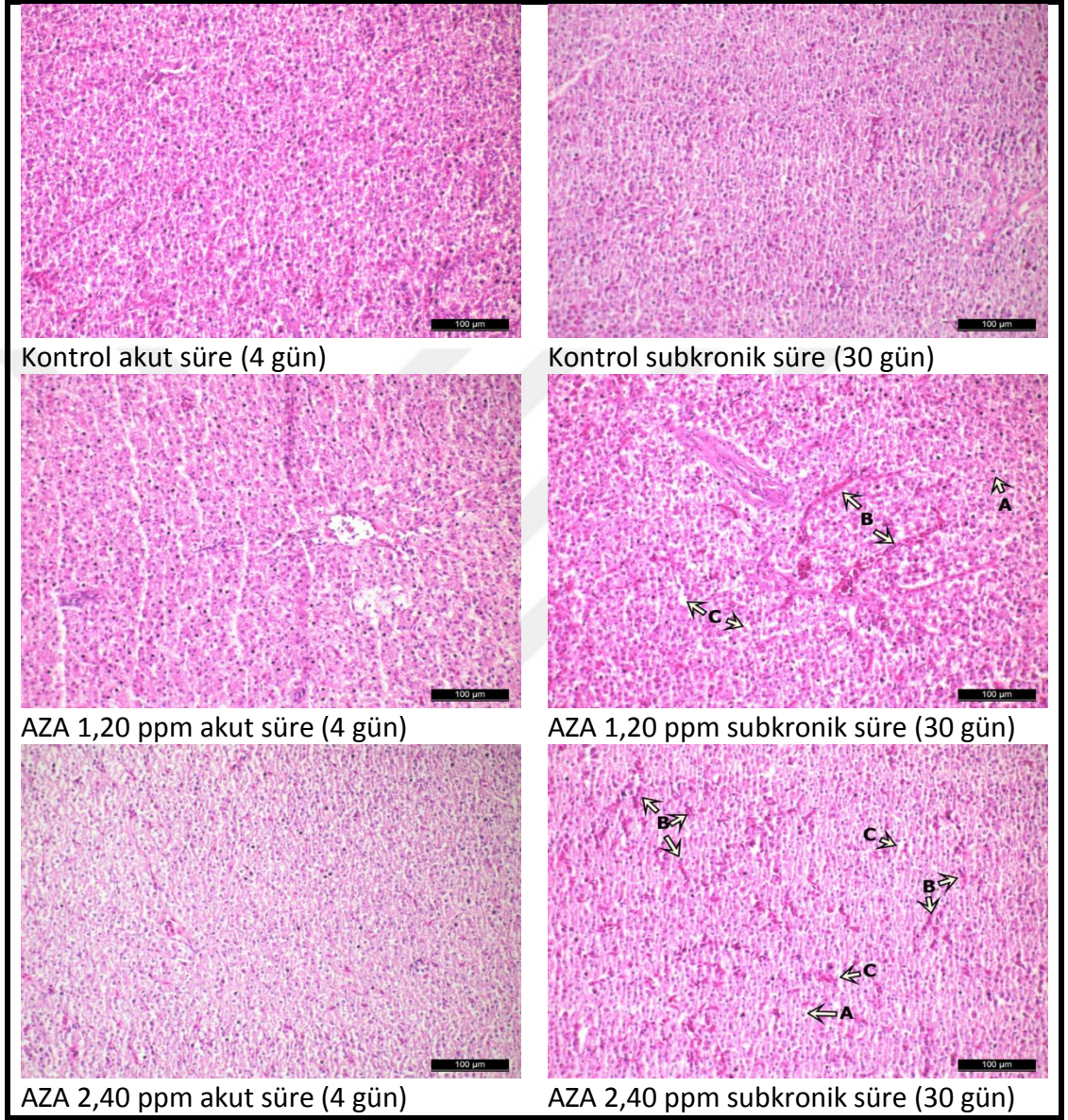


Şekil 4.17. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* solungaç dokularında görülen histopatolojik etkiler (A- Sekonder lamellerde epitel ayrılması, B- Sekonder lamellerde düzleşme C- Sekonder lamellerde kısılma) HE 200X.

4.4.2. Karaciğer histopatoloji sonuçları

Akut sürede (4 gün) AZA'nın tüm dozlarındaki karaciğer dokularında kontrol grubuna göre önemli bir farklılık gözlenememiştir. Subkronik sürede (30 gün) karaciğer dokusunda görülen vakuoler dejenerasyon, mononükleer hücre infiltrasyonu, sünizoidal mesafede hidrofik dejenerasyonun doza bağlı olarak arttığı

tespit edilmiştir. Elde edilen veriler sonucunda bağışıklık sisteminin karaciğerdeki hücresel hasarları azaltmak için etkin olduğu kanısına varılmıştır (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. Farklı dozlarda (1,20 ve 2,40 ppm) ve sürelerde (4 ve 30 gün) AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* karaciğer dokularında görülen histopatolojik etkiler (A- Vakuoler dejenerasyon, B- Mononükleer hücre infiltrasyonu, C- Sünizoidal mesafede hidropik dejenerasyon) HE 200X.

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Balıklar, su ortamındaki değişikliklere karşı büyük bir hassasiyetle tepki gösterdiği için biyoindikatör tür olarak kabul edilirler ve su kirliliğinin izlenmesinde önemli bir role sahiptirler (Srivastava vd., 2010). Yaygın çevresel kirlenmelerin teleost balıklar da dahil olmak üzere, hayvanlarda endokrin sistem fonksiyonuna müdahale ettiği kabul edilmektedir (Zhang vd., 2015).

Balıklarda büyüme esas olarak diğer omurgalı hayvanlarda olduğu gibi hipofiz tarafından salgılanan BH kontrolü altındadır. Büyüme hormonu etkisini direk olarak yapmakla birlikte büyük çoğunlukla esas etkisini IGF-1 salgısı ile yapmaktadır. IGF-1, BH tarafından uyarılarak büyük çoğunluğu karaciğerde, kısmi olarak kaslar ve bazı dokular tarafından üretilir. BH ve IGF-1 hem büyümeyi hem de metabolizmayı kontrol eden çok yönlü faktörlerdir (Reinecke vd., 2005).

Eder vd., (2008) klorpirifos ve esfenvalerate uygulanan juvenile Chinook salmonlarda 20 ve 60 günde dalakta IGF-1 transkripsiyonunda anlamlı azalma gösterdiğini rapor etmişlerdir. Benzer şekilde, bizim çalışmamızda da kontrol grubuna göre her iki doz grubunda akut ve subkronik sürede AZA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio* balıklarının serum BH ve serum IGF-1 düzeylerindeki azalışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Süreler arası karşılaştırmada ise her iki doz grupları arasında akut ve subkronik sürelerde serum BH düzeyleri arasında istatistiksel bir fark belirlenmemişken serum IGF-1 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,05$). Bu azalmanın nedeni pestisit gibi birçok toksik maddelerin hipotalamo-hipofizer aksı üzerine inhibe etmiş olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca bu azalmanın sebebinin AZA'nın BH ve IGF-1 gen transkripsiyonunu baskılamış olabileceği düşünülmektedir.

Yukarıdaki çalışmalarda pestisite maruz kalan balıkların serum BH ve serum IGF-1 düzeylerinde azalma rapor edilmiş olmasına rağmen başka çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Davis vd., (2009) o,p'-DDE veya heptaklor uygulamasının belirli bir zaman noktasından sonra plazma IGF-1'in seviyesini arttırdığını ve

ortalama düzeylerini kontrol grubndaki balıklara göre daha yüksek bulunduğunu rapor etmişlerdir. Ancak o,p'-DDE veya heptaklor hepatik IGF-1'in gen ekspresyonu üzerinde hiçbir etkiye sahip değildir. Buna karşılık o,p'-DDE veya heptaklor'un 100 µg/g'ı plazma IGF-1'i etkilemediği ancak karaciğer IGF-1 ekspresyonunu önemli ölçüde arttırdığı bildirilmiştir. Her iki deney sonucunda da elde edilen IGF-1 ekspresyonu ve plazma IGF-1'in eşitsizliğinin bağlanma proteini üretimindeki değişikliğin bir sonucu olabileceği öngörülmüştür (Davis vd., 2009). Bu çalışma ile de balıklarda paraziter hastalıklara karşı kullanılan AZA'nın *Cyprinus carpio* balıklarında büyümede olumsuz etki oluşturduğu doza ve süreye bağlı olarak gösterilmiştir.

Son yıllarda olumsuz koşulların oluşturduğu stresin balıklar üzerinde korumaya yönelik yeniden fizyolojik ve metabolik düzenlemeye gittiği bildirilmektedir (Wendelaar Bonga, 1997). Bu nedenle çok sayıda çevresel stres, balık tiroid aksında akut veya kronik etkiler gösterir. Bu etkiler tiroid değişiklikleri, plazma T₄ ve T₃ düzeylerinin dengesizliği veya tiroid dokularının yapısında (tiroid hipertrofisi, hiperplazi) meydana gelen hasarlar olabilir. HPT aksı, üreme kontrolü de dahil olmak üzere omurgalılarındaki diğer endokrin sistemlerle karmaşık bir şekilde bağlantılıdır (Nugegoda ve Kibria, 2017). Stres nedeniyle metabolik aktivitenin düzenlemesi azaltılması yönündedir. Metabolik aktivitenin en önemli düzenleyicisi tiroid hormonlarıdır. Tiroid hormonlarının periferik kandaki düzeyleri normal fizyolojik işleyiş içerisinde HPT aksı tarafından negatif geri beslemeyle (feedback) düzenlenir. Özellikle toksikolojik stresler bu aks üzerinde hipotalamus düzeyinde immünolojik mediyatörler (IL1, 6 ve TNF) tarafından baskılanmakta ve canlıda nontirodial hastalık sendromu oluşturmaktadır. Bu sendrom sonucu sırasıyla tirotropin salgılatıcı hormon (TRH) salınımı azalmakta dolayısıyla TSH ve tiroid bezi hormon salınışında (T₃ ve T₄) azalma olduğu bildirilmektedir. Aynı mediyatörler, T₄'ü biyolojik olarak aktif olan T₃'e dönüştüren deiyodinaz enziminin gen ekspresyonu üzerine etki ederek bu azalmayı sağladığı bildirilmektedir (Wiersinga, 2000). Tüm bu düzenlemelerin nedeni hayvanları strese karşı korumaya ve yeni duruma adaptasyona yöneliktir (Kakucska vd., 1994). HPT aksı hormonlarının balıklarda enerji metabolizması, lipit metabolizması, üreme ve genetik transkripsiyon üzerindeki etkileri nedeniyle büyüme metabolizması üzerinde de önemli rol oynadığı bildirilmektedir (Saravanan vd., 2014). Tagawa ve Hirano, (1991) *Oryzias latipes*

balık türünde yaptıkları araştırmada T₃ ve T₄ hormonlarının kısmi tükenmesinin genç balıkların kuluçka, hayatta kalma ve gelişimi üzerinde belirgin bir etkisi olduğunu bildirmektedirler. Yine yapılan araştırmalarda tiroid bezi inhibisyonu sonucunda larval ve juvenil balıkların metamorfozlarını gerçekleştiremediği (Miwa ve Inui, 1987), eksojen T₃ ve T₄ uygulamasının balıklarda erken metamorfoza girdiği tespit edilmiştir (Brown, 1997). Serum T₃, T₄ ve TSH düzeyleri, yaygın olarak deney hayvanlarında tiroid fonksiyonunun güvenilir göstergeleri olarak kullanılmakta ve bu hormonların serum konsantrasyonundaki değişimi periferik metabolizmadaki sentezi ve salgılanmasına ait bozulmaları yansıtabilmektedir (Kelly, 2000; Yousif ve Ahmed, 2009).

Yapılan çalışmalarda, çevre kirleticilerinin plazma tiroid hormonu düzeylerini etkilediği ve balıklarda tiroid işlev bozukluğuna neden olduğu tespit edilmiştir (Waring ve Brown, 1997).

Portekiz'in kirlenmiş Ria de Aveiro (Oliveira vd., 2011) Bölgelerinden toplanan *Liza aurata* balıklarında, triadimefon (Liu vd., 2011) ve perklorata (Patino vd., 2003) maruz bırakılan *Danio rerio* ve melatonine (Grau vd., 1985) maruz bırakılan *Fundulus heteroclitus* balıklarında TSH düzeyinde artış olduğu bildirilmiştir. Yine yapılan bir araştırmada farklı balık türleri ve farklı dozlarda dimethoate uygulamaların tiroid bezi aktivitesini etkileyerek tiroid hormon düzeylerini etkilediği bildirilmektedir (Thangavel, 2005; Dey ve Saha, 2014). Çalışmamızda da benzer şekilde TSH hormon düzeyinde artış tespit edilmiştir. TSH'nin yükselmesi, plazma T₄ azalması ve/veya TH üretiminin hipofiz tarafından daha düşük seviyede olmasından kaynaklandığı literatürlerde rapor edilmiştir (Oliveira vd., 2011; Patino vd., 2003, Teles vd., 2005). Ayrıca bazı literatürlerde bu artışın tiroid hormon seviyelerindeki azalmanın feedback mekanizması ile düzenlenmesinden dolayı kaynaklandığı bildirilmektedir. Nitekim balıklar üzerindeki yapılan araştırmalarda kirleticilerin TSH düzeyini arttırdığı bildirilmektedir (Steenland vd., 1997; Dey ve Saha, 2014).

Yadav ve Singh, (1986) malathiona ve beta-hekzaklorosikloheksana maruz kalan *Heteropneustes fossilis*'in dolaşımındaki plazma T₃ ve T₄ seviyelerini çalışmış, 4 hafta sonunda malathiona (10 ve 20 ppm) ve beta-hekzaklorosikloheksana (8ppm) maruz kalan balıkların plazma T₄ seviyelerinde azalma tespit etmişlerdir. Ayrıca

yüksek konsantrasyon beta-hekzaklorosikloheksanın (16 ppm) T₄ plazma seviyesinde artışına neden olduğunu bildirmişlerdir. Beta-hekzaklorosikloheksana maruz kalmış balıklar önemli ölçüde düşük plazma T₃ ve T₃/T₄ oranı sergilerken malathion maruziyetinin hormonların seviyelerinde anlamlı artışa neden olduğunu rapor etmişlerdir. Yine yapılan çalışmalarda endosulfana maruz kalan *Oreochromis niloticus* balıklarının serum T₄ seviyelerinde azalma bildirilmişken (Coimbra vd., 2007), monocrotophos'a maruz bırakmanın erkek *Carassius auratus* balıklarının serum plazma TT₃ seviyesinde ve TT₃'ün TT₄'e oranında azalmaya neden olduğu (Zhang vd., 2013), hexaconazole ve tebuconazole fungusidlere maruz kalan zebra balıklarının T₄ düzeyinde belirgin bir düşüşün olduğunu (Yu vd., 2013) rapor etmişlerdir.

Balıklarda HPT ekseninin ortak düzenleyicileri olarak CRH ve TSH sekresyonları işlev görür ve dolaşımdaki TH'lerin konsantrasyonlarındaki değişiklikler ile tetiklenir. Transtiretin, TH'leri bağlar ve çeşitli hedef dokulara taşır. TH'lere yapısal benzerliği olan birçok çevresel kirlenici, omurgalılarda transtiretine bağlanarak TH homeostazisine müdahale eder ve TH aksını bozabilir. Tiroid hormonları, omurgalılarda gelişim, somatik büyüme, metabolizma, enerji sağlama ve üreme ile ilişkili geniş bir biyolojik süreç yelpazesini düzenlemektedir. Tiroid hormonları tiroid foliküllerinde sentezlenir ve T₄ salgılanan en temel hormondur. T₄'ün birkaç fonksiyonu vardır ve biyolojik olarak aktif bir hormon olan T₃'ün öncüsüdür. T₄'ün T₃'e dönüşümü, periferik dokuda, T₄'ün dış halkasının iyodür birimlerinden birinin enzimatik olarak uzaklaştırılmasıyla meydana gelir. Tiroid hormonlarının deiyodinasyonunu katalize eden enzimlere iyodotironin deiyodinazlar denir. Tiroid folikül sekresyonları arasında, T₄ balıkların kanında baskın olan dolaşım hormonudur. T₃ büyük ölçüde periferik dokularda T₄'ün enzimatik deiyodinasyonu ile üretilmektedir. Sonuç olarak, plazma T₃ seviyeleri çoğunlukla tiroidal T₄ üretimindeki düşüş ve / veya periferik TH metabolizmasında değişiklikler nedeniyle azalmaktadır.

Çalışmamızda da serum TSH, ST₃ ve ST₄ düzeylerindeki artış ile serum TT₃ ve TT₄ düzeylerindeki azalışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05). Bulgularımızdaki THS artışı pozitif feedback mekanizması etkisi ile ST₃ ve ST₄ artışına neden olduğu kanaatindeyiz. Plazma TT₃ ve TT₄ düzeylerindeki azalma

negatif feedback mekanizması sonucu, periferik TH deiyodinasyonu veya metabolizmasındaki olası değişikliklerden kaynaklanmış olabilir. TT_3 ve TT_4 sentezinin azalması tiroid bezi foliküllerinde sitotoksik etkisinin olabileceğini de düşündürmektedir. Aynı zamanda TSH reseptörlerine karşı anti tiroid peroksidaz antikorları sentezlenmiş olabilir. Ayrıca karaciğerdeki T_3 'ün uyarılan enzimatik metabolizması, dolaşımdaki TT_3 seviyelerinde bir azalmaya neden olmuş olabilir.

Balıkların strese karşı, HPI aksı hormonları (ACTH ve kortizol) salgılayarak adaptif bir yanıt oluşturduğu (Schreck, 1990) ve balıklarda adaptif tepkilerin çok uzun sürdüğü bildirilmektedir (Alexander ve Ingram, 1992). Çoğu balık türleri üzerinde yapılan araştırmalarda, stres sonrası kısa zaman içerisinde plazma kortizol seviyelerinde yüksek bir artış gösterdiği bildirilmektedir (Barton, 2002). Kortizolün balıklarda, toksik maddelerin dinamikleri üzerinde önemli bir etkiye sahip (Mommsen vd., 1999) ve hayvanların stres karşısında artan enerji ihtiyacını karşılamaya yönelik olduğu bildirilmektedir (Barton, 2002; Langiano ve Martinez, 2008). Balıklarda stres şartları altında çok yaygın bir tepki olarak kortizolün artması plazma glikoz seviyesinin artışına ve bunun hayvanların beyin, solungaç ve kas gibi dokularının artan enerji talebini karşılamaya yönelik olduğu (Barton, 2002), yine birçok teleost türünde hiperglisemik yanıtı kortizolün aracılık ettiği bildirilmektedir (Wendelaar Bonga, 1997). Bu nedenlerden dolayı stres göstergelerinin en sık kullanılanı glikokortikosteroid düzeyleri üzerinedir. Bunun nedeni ise hem olumsuz çevre koşullarının canlılar üzerinde oluşturabileceği etkinin ilk göstergesi hem de kortizol verilerinin çok kolaylıkla ölçülebilir ve ticari olarak kolay temin edilen kitlerle belirlenebilmesidir (Vijayan vd., 1994b).

Çalışmamızda AZA'ya maruz bırakılan balıklarda uygulama strese neden olmuştur. Stres koşulları altındaki balıklarda beyin, kas ve solungaç gibi organlarda artan enerji ihtiyacını karşılamak üzere serum ACTH ve kortizol seviyeleri artmıştır.

Organizmalarda dışarıdan gelen fiziksel ve kimyasal uyarılar (ısı, yanma, toksik madde) hücrenin iyon dengesini bozar. Böylece hücre sıvı alır ve organeller şişer. Plazma membran bütünlüğü bozulur ve ozmotik basınç nedeniyle hücre patlar. Hücre ölümünü takiben hücre içeriğinin hücreler arası boşluğa salınması enflamasyon (yangı) olayına sebep olur ve bu enflamasyon nekrozun önemli bir işaretidir. Arsenik, siyanid, insektisitler gibi toksik maddeler ve ağır metaller nekroza neden

olur. Enflamasyon sitokinlerin salınımını aktive eden önemli bir faktördür. Sitokinler, doku yenilenmesi, embriyonik gelişme, enflamasyon ve bağışıklık düzenlenmesinde merkezi bir önem taşıdığı bilinen uyarılabilir hücre peptidlerdir (Ahne, 1993). Bunların omurgalılarda bağışıklık fizyolojisinin düzenlenmesi ile ilgili temel araçlar oldukları düşünülmektedir (Oppenheim ve Shevach, 1991). Teleost balıkların bağışıklık fizyolojisinde de memeli hayvanlardakine benzer sitokinlerin aracılık ettiği gösterilmiştir (Ahne, 1993).

Danio rerio larvarında TNF- α , IL-1 β , IL-6 dahil olmak üzere ana sitokinlerin mRNA seviyeleri 96 saat boyunca 100 veya 300 μ g/L klorpirifos maruz kaldıktan sonra önemli ölçüde artmıştır (Jin vd., 2015). Diğer bir çalışmada ise Chen vd., (2014) *Cyprinus carpio*'nun 40 gün boyunca çeşitli konsantrasyonlarda (1,16, 11,6 ve 116 mg/L) klorpirifos maruziyetinin ardından böbrek ve dalakta IL-6 ve TNF- α sitokinlerinin ekspresyonunun kontrol grubu ile karşılaştırıldığında arttığını gözlemlemişlerdir.

Bizim çalışmamızda da serum TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeylerinde artış tespit edilmiştir. AZA'nın *Cyprinus carpio*'da dalağa ve böbreğe zarar vererek doğal bağışıklık sistemini uyardığı sonuçta da TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeylerinde artışa neden olduğu düşünülmektedir (Wang vd., 2011; Jin vd., 2015).

Çevresel ve biyolojik faktörlerin etkisi altında kalmış bir organizmada meydana gelebilecek kompleks değişikliklerin etkileri oluşan stres sonrası hematolojik parametrelerde gerçekleşen değişimlerle gösterilebilmektedir (Örün, 2000). Kan dokunun fiziksel ve kimyasal yapısı organizmada meydana gelen değişiklikleri doğru olarak yansıtmaktadır. (Velisek vd., 2006).

Murussi vd., (2016) AZA'nın ticari formu olan Neenmax'ın 20,40 ve 60 μ L/L'sinin uygulanması sonucu Hb, Hct ve RBC dağılımının 60 μ L/L'de azalma gösterdiğini, Saravanan vd., (2011) neem yapraklarından elde edilen özütün 1.035g/L 'sinin 24 saat boyunca *Cirrhinus mrigala*'ya uygulanması sonucu Hb, Hct, RBC, MCV, MCH ve MCHC seviyelerinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak azalma gösterdiğini rapor etmişlerdir. Aynı şekilde *Cyprinus carpio* balıklarının sublethal ve 12.5 ppm monocrotophos pestisitine maruz bırakılmaları sonucunda Hb miktarında ve Hct seviyesinde (Vaiyanan vd., 2015), *Channa punctatus* balığının 45 gün

boyunca iki farklı doz (0.075 mg/L ve 0,15 mg/L) deltamethrine maruz kalmalarının balıklarda kontrol balıklarına göre Hb içeriği, RBC sayısı, Hct, MCV ve MCHC değerlerinde (Jayaprakash ve Shettu, 2013) önemli bir düşüşe neden olduğu tespit edilmiştir.

Bizim çalışmamızda da Hb, Hct, RBC, MCV, MCH ve MCHC seviyelerinde azalma tespit edilmiştir. Hematolojik parametreler arasında yüksek bir korelasyona sahip olan RBC, Hb ve Hct'deki azalmalar, eritropoez inhibisyonu, alyuvar yıkımı, böbrek ve dalakta hematopoietik doku tahribatı ve hemopoietik sürecin olumsuz etkilenmiş olabileceği sonucunu düşündürmektedir. Aynı zamanda eritrosit indekslerindeki azalma solungaç hasarından kaynaklanmış olabilir.

Balık kanındaki monositlerin sayısı normalde çok düşük miktarda olmasına rağmen yabancı bir maddenin vücuda girmesiyle çok kısa bir sürede sayıları artabilmektedir (Roberts, 2001). Lenfositler hücrel ve humoral bağışıklıktan sorumludurlar. Humoral bağışıklık belli bir antijeni özel olarak tanıyan spesifik lenfositlerin uyarılması ve aktive olmasıyla ortaya çıkmaktadır (Diker, 2005). İmmün sisteminin bozulması durumunda ise lökosit sayısında azalma meydana gelmektedir (Zhiteneva vd., 1989; Palm vd., 1992). Bizim çalışmamızda olduğu gibi neem yaprak özütünün *Cirrhinus mrigala*'ya (Saravanan vd., 2011), monocrotophos pestisitinin *Cyprinus carpio*'ya (Vaiyanan vd., 2015), deltamethrin'in *Channa punctatus*'a (Jayaprakash ve Shettu, 2013) uygulanmasının WBC sayısında anlamlı bir artışa neden olduğu gözlenmiştir.

Pestisitler de dahil olmak üzere birçok çevresel kirletici madde balıklarda oksidatif strese neden olabilmektedir (Monteiro vd., 2006). MDA, oksidatif stresin nedenlerinden biri olan lipid peroksidasyonun göstergelerindendir. Farklı doz ve sürelerle bağlı olarak farklı balık türlerine farklı pestisitlerin uygulanması sonucunda MDA düzeylerinde artışlar olduğu literatürde bildirilmiştir (Slaninova vd., 2009).

Sharma ve Ansari, (2014) AZA'nın ticari bir formu olan Achook®'un farklı konsantrasyonlarına (0,025, 0,17 ve 0,35 µg / L) maruz kalan *Danio rerio* beyin ve kas dokularında, Amin ve Hashem, (2012) deltametrine (0,75 µg / L) maruz kalan *Clarias gariepinus*'un karaciğer, solungaç ve böbrek dokularında, Farombi vd., (2008) butachlorun farklı konsantrasyonlarına (1,00, 2,00 ve 2,50 ppm) maruz kalan

Clarias gariepinus'un karaciğer, solungaç, böbrek ve kalp dokularındaki lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA seviyelerinde anlamlı artışlar olduğunu rapor etmişlerdir.

Bizim çalışmamızda da literatürlerde belirtilen sonuçlara benzer şekilde hem solungaç hem de karaciğer dokularında AZA'nın her iki doz grubunda da (1,20 ve 2,40 ppm) MDA düzeylerinde anlamlı bir artış olmuştur.

Karaciğer ve solungaç dokusundaki MDA artışının, AZA maruziyetinin bu dokularda hasara neden olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Çünkü enzimatik antioksidan sistemin bozulması her iki dokuda da ROS üretiminin artmasına ve dolayısıyla pestisit maruziyeti sonucu lipid peoksidasyon artışından sorumlu olabilir. Bu nedenle pestisit ürettiği ROS'dan kaynaklanan lipid peroksidasyonu, hücre apoptozuna neden olmuş olabilir çünkü ROS ve oksidatif stresin hücre apoptozunun tetikleyicileri olduğu gösterilmiştir (Shen ve Liu, 2006).

Süperoksit anyonunun hidrojen peroksit dönüşmesini katalize eden SOD ve hidrojen peroksitin su ve oksijene dönüşümünü katalize eden CAT, toksikolojik etkilere karşı ilk savunma hattıdır ve bu enzimler biyobelirteçler olarak kullanılır. (Pandey vd., 2003).

24 saat boyunca roundupa maruz kalan *Prolilopus lineatus* balıklarının (Modesto ve Martinez, 2010), 20 ve 30 gün boyunca 32 ppm neemazala maruz kalan *Oreochromis niloticus* balığının solungaçlarındaki (El-Badawi, 2015) SOD aktivitelerini önemli ölçüde azalttığını gözlemlemişlerdir.

Winkaler vd., (2007) biyotestit varlığının tüm nöral konsantrasyonlarda karaciğer CAT aktivitesinde bir azalmaya neden olan *Prolilopus lineatus*'un antioksidan savunma sistemi ile etkileştiğini ve 5,00 g/L neeme maruz kalan balıklarda detoksifikasyon enzimi glutatyon-S-transferazın aktif olduğunu bildirmiştir. Crestani vd., (2006) *Rhamdia quelen*'in klomazona maruziyetinin, Sharma ve Ansari, (2014) neem tabanlı bir insektisit olan Achook® (AZA %0.15) 'a maruz kalan *Danio rerio*'nun kas ve beyin dokusu CAT aktivitesinde azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda da yukarıdaki ve literatürdeki çalışmalara benzer şekilde, AZA maruziyetinin sonucu olarak CAT aktiviteleri hem akut hem de kronik dönemde azalmıştır ve bu çalışmada gözlemlenen CAT aktivitesindeki konsantrasyona bağlı azalma önceki çalışmaların raporları ile benzerlik göstermektedir (Pandey vd., 2003; Monteiro vd., 2006; Gultekin vd. 2000; Sayeed vd., 2003; Naveed ve Janaiah, 2011). CAT aktivitesinin azalması süperoksit radikal üretiminin artmasına bağlı olabilir. Çünkü bu anyonun fazla miktarının CAT aktivitesini inhibe ettiği bilinmektedir (Bainy vd., 1996). Ahmad vd., (2000) CAT aktivitesinin azalmasının kontaminantlar tarafından indüklenen süperoksit radikalleri akışı sonucu olduğunu açıklamışlardır. Ayrıca CAT aktivitesindeki azalmanın sebebinin insektisit nedeniyle lipid peroksidasyon artışına bağlı olabileceği varsayılmaktadır.

Modesto ve Martinez'in, (2010) 24 saat boyunca roundupa maruz kalan *Prolilopus lineatus* balıklarının GSH-Px aktivitelerindeki azalma ile ilgili raporları çalışmamızın sonuçları ile uyumludur. Roundupa akut süre maruz kalma MDA'nın ortaya çıkmasına neden olmaktadır. MDA'nın artışı ise SOD ve GSH-Px aktivitesinde azalmaya neden olmaktadır.

Solungaçlar balıkta oksijen alımı, karbondioksit salımı, ozmoregülasyon, asit-baz regülasyonu, nitrojen atılımı, hormon metabolizması ve algılanma gibi çok çeşitli temel işlevlerde yer alan çok işlevli bir organdır. Solungaçların büyük bir solunum yüzeyi alanına sahip olması iyon ve su akışının daha hızlı olmasını sağlar. Ayrıca balıkların yaşayıp, geliştikleri çevre ile olan etkileşimlerinde asıl bölgeyi oluşturmaları nedeniyle sudaki kimyasallara veya çevre koşullarındaki değişikliklere bağlı olarak ilk etkilenen yapılardır. Balık solungaçlarında meydana gelen yaralanma ve hasarlar, oksijen tüketiminin azalmasına ve ozmoregülasyon fonksiyonun bozulmasına neden olabilir (Evans, 1987).

Yapılan çalışmalarda *Puntius ticto*'nun 5,012 ppm dimethoatea 4 gün boyunca maruz bırakılması (Marutirao, 2012), *Carassius auratus gibelio*'un 0,05 mg/L malathiona maruz bırakılması ve *Channa punctatus*'un alachlor toksisitesine maruz kalması (Butchiram vd., 2009) solungaç histoptolojisinde interlamellar bölge arasında hafif dejeneratif değişiklikler, epitelin ayrılması, bazı nekrozlar, primer filament uçlarında şişme, sekonder lamellerde kıvrılma, mukoza artışı, hücre füzyonu, epitelyal kırılma,

vakuolleşme, sekonder lamel füzyonu ve sekonder lamel epitelinin hiperplazisi gibi hasarlara neden olduğu rapor edilmiştir.

Ayrıca deltametrin sivrisinek balığı solungaç epitelyumunda hipertrofiye, ödeme, anevrizmaya, deskuamasyona (derinin soyulması, pul pul dökülmesi), lamellar epitelyumda ödeme, hiperplaziye ve erimeye sebep olmuştur (Cengiz, 2006; Cengiz ve Unlu, 2006).

Yapılan bir diğer çalışmada gökkuşağı alabalığında denenen farklı pestisitlerden parathion solungaç epitel dokusunda hiperplaziye, malathion aynı balığın solungacında ödem ve epitel dokuda ayrışmaya, karbarilin belli belirsiz lezyonlara sebep olduğu, toxafen ve heptaklorun ise ödem meydana getirdiği belirlenmiştir. Diklobenilin levrek balığının solungaç damarlarında tıkanmalara, anevrizma ve erimeye, Diüronun lamellarda anevrizma, hemoroji ve erimeye sebep olurken, hidrotol lamellarda anevrizmaya, sodyum trikloroasetatın (NaTA) sazangillerde mukus hücrelerinin sayısında artışa, lameller epitelde nekroz ve yutaktan solungaçlara doğru yoğun mukus salgısına sebep olduğu bildirilmiştir. 3-trifluoromethyl-4-nitrophenolün yılan balıklarında ödem, yutakta kızarıklık, mukus salgısında aşırı artış gibi değişimler meydana getirdiği rapor edilmiştir (Walsh ve William, 1972).

Çalışmamızda kullandığımız neem ağacı özütünden elde edilen neem yağı ile yapılan bir çalışmada 1,00 ppm neem yağına 72 saat maruz kalmış *Glossogobius giuris* balığında solungaç filament primer lamellerde dejenerasyon ve mukus hücrelerinde vakuol oluşumu gözlemlendiği bildirilmiştir. 96 saat boyunca 1,00 ppm neem yağına maruz kalmış balıklarda mukus hücrelerinde dejenerasyon ve vakuolizasyon, 90 gün boyunca 1,00 ppm neem yağına maruz kalmış balıklarda primer ve sekonder lamellerde normal görünüm ve mukus hücrelerinde az bir değişim gözlemlendiği rapor edilmiştir (Mamatha ve Mohan, 2014).

Pestisit ve kirleticiler solungaç lamel epitelinin hipertrofisine, hiperplazisine ve lamel füzyonuna sebep olarak lamellerin kalınlaşmasına neden olmaktadır. Lamellerin kalınlaşması ilk savunma tepkisi olarak solunum ve difüzyon mesafesini artırarak toksik maddelerin girişini engellemektedir. Bununla birlikte, bu stratejiler ayrıca normal oksijen difüzyonunu da önler. Bu nedenle balıklar, toksik maddelere karşı

korunma ve normal fizyolojik ihtiyaçlar arasında denge kurmak zorundadır (Ghanbahadur ve Ghanbahadur, 2012).

Daha nceki çalışmalarda bilim adamlarının solungaç histopatolojisi ile ilgili elde ettiği bulgular (sekonder epitel lamellerinde ayrılma, kanama, lezyon, mukus artışı) bizim bulgularımızla benzerlik göstermektedir.

Singh'in, (2013) raporuna göre dimethoate maruz kalmış *Cyprinus carpio* balıkların karaciğerinde histopatolojik değişimler gözlenmiştir. Bu değişimler hepatositlerin düzeninin bozulması, damarlarda tıkanıklık ve yırtık, yaygın kanama, sitoplazmik vakuolizasyon ve nekrozdur. Butchiram vd., (2009) *Channa punctatus*'un alachlora maruz kalması sonucu balığın karaciğerinde benzer sonuçlar rapor etmişlerdir.

Glifosata maruz kalan *Piaractus mesopotamicus*'da hepatosit karaciğer hcreti hipertrofisi ve vakuolizasyonu (Shiogiri vd., 2012); cypermethrine maruz kalan gökkuşağı alabalığının karaciğerinde hepatositlerde hidropik dejenerasyon, vakuoler dejenerasyon, yağlanma, hemoraji, hücresel nekroz, interstisyel dokusunda iltihabi hücre infiltrasyonu ve fibroblastik proliferasyon (Atamanalp, 2000); dimethoate maruz kalmış *Cyprinus carpio* balıkların karaciğerinde hepatositlerin düzeninin bozulması, damarlarda tıkanıklık ve yırtık, yaygın kanama, sitoplazmik vakuolizasyon ve nekroz (Singh, 2013) gözlendiği rapor edilmiştir. Butchiram vd., (2009) *Channa punctatus*'un alachlora maruz kalması sonucu balığın karaciğerinde benzer sonuçlar rapor etmişlerdir. Kumar vd., (2013) *Heteropneustes fossilis*'i 96 saat boyunca bizim çalışmamızda kullandığımız azadirachtin pestisitinin LC₅₀ değerinin %20'sine (rn. 10,47 mg/L) maruz bırakmışlardır. AZA'ya 1 hafta maruz kalmış balıkların karaciğer hücrelerinin çekirdeklerinde genişleme ve bazı hücrelerin sitoplazmalarında degranülasyon, 2 hafta maruziyetten sonra hepatosit düzenlemesinde bozulma, hepatositlerde vakuolizasyon ve piknotik çekirdek, 3 ve 4 hafta uygulama sonrası daha fazla hepatoselllar nekroz gözlendiğini rapor etmişlerdir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz karaciğer histopatolojisi bulguları (vakuolar dejenerasyon, mononklear infiltrasyon ve sinüzoidal boşlukta hidropik dejenerasyonu) nceki yapılan çalışmalarda elde edilen bulgular ile benzerlik göstermektedir.

Sonuç olarak çalışmamızın hormonal, hematolojik, antioksidan ve histopatolojik bütün verilerini değerlendirdiğimizde; AZA organik bir pestisit olmasına ve kuşlar ve memelilere sentetik pestisitlerden daha az toksik olmasına rağmen süreye doza bağlı olarak *Cyprinus carpio* balığında toksik etki göstermiştir.



6. ÖNERİLER

Bitkisel kökenli pestisitler son yıllarda daha az toksik etkisi olduğu düşünüldüğünden sentetik pestisitlerin yerine yaygın olarak tarım alanlarında kullanılmaktadır. Bu bitkisel kökenli pestisitlerden biri de *Azadirachta indica*'dan elde edilen ve AZA içeren bir ticari form olan NeemAzal-T/S'dir. Tarım alanlarından akuatik ortama geçen pestisitler hedef olmayan organizmalara oldukça fazla olumsuz etki yapmaktadır. Bu organizmalardan biri de ülkemizde yaygın olarak bulunan ve alt gelir grubu vatandaşlarımız tarafından tüketilen *Cyprinus carpio* balığıdır. Yaptığımız çalışmada NeemAzal-T/S organik kökenli bir pestisit olmasına rağmen zaman ve doza bağlı olarak *Cyprinus carpio* üzerinde hormonal, hematolojik, antioksidan ve histopatolojik olumsuz etkileri vardır. NeemAzal-T/S ve içeriği olan AZA'nın hedef olmayan organizmalar üzerine etkileri bilim insanları tarafından daha fazla araştırılmaya ihtiyaç vardır. Bu süre içerisinde de bu bileşiğin tarımsal ve diğer alanlarda kullanımı ile ilgili kullanıcılar bilinçlendirilmeli ve gerekli tedbirler alınmalıdır.

7. KAYNAKLAR

- Adhikari, S., Sarkar, B., Chatterjee, A., Mahapatra, C. T. ve Ayyappan, S., 2004. Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost, *Labeo rohita* (Hamilton), *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 58, 2, 220-226.
- Ahmad, I., Hamid, T., Fatima, M., Chand, H. S., Jain, S. K., Athar, M. ve Raisuddin, S., 2000. Induction of hepatic antioxidants in freshwater catfish (*Channa punctatus* Bloch) is a biomarker of paper mill effluent exposure, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1523, 1, 37-48.
- Ahne, W., 1993. Presence of interleukins (IL-1, IL-3, IL-6) and the tumour necrosis factor (TNF alpha) in fish sera, *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists (United Kingdom)*.
- Alak, G., Atamanalp, M., Topal, A., Arslan, H. ve Oruç, E., 2013. Histopathological and biochemical effects of humic acid against cadmium toxicity in brown trout gills and muscles, *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13, 2, 315-320.
- Alak, G., Sönmez, A. ve Hisar, O., 2013. Bazı pestisitlerin balıkların antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkileri, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 42, 1, 91-93.
- Alexander, J.B. ve Ingram, G.A., 1992. Noncellular nonspecific defence mechanisms of fish, *Annual Review of Fish Diseases*, 2, 249-279.
- Altinok, I. ve Capkin, E., 2007. Histopathology of rainbow trout exposed to sublethal concentrations of methiocarb or endosulfan, *Toxicologic Pathology*, 35, 3, 405-410.
- Amanchi, N.R. ve Hussain, M.M., 2010. Cytotoxicity assessment of monocrotophos in *Paramecium caudatum* and *Oxytricha fallax*, 31, 5 603-607.
- Âmin, K.A. ve Hashem, K.S., 2012. Deltamethrin-induced oxidative stress and biochemical changes in tissues and blood of catfish (*Clarias gariepinus*): antioxidant defense and role of alpha-tocopherol, *BMC veterinary research*, 8, 1, 45.
- Ansari, B.A. ve Kumar K., 1988. Cypermethrin toxicity effect on the carbohydrate metabolism of the Indian catfish, *Heteropneustes fossilis*, *Science of the total environment*, 72, 161-166.

- Anuradha, A. ve Annadurai, R.S., 2008. Biochemical and molecular evidence of azadirachtin binding to insect actins, *Current Science*, 1588-1593.
- Arsenault, J.T.M., Fairchild, W.L., MacLatchy, D.L., Burrige, L., Haya, K. ve Brown, S.B., 2004. Effects of water-borne 4-nonylphenol and 17 β -estradiol exposures during parr-smolt transformation on growth and plasma IGF-I of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.), *Aquatic toxicology*, 66, 3, 255-265.
- Ascher, K.R., 1993. Nonconventional insecticidal effects of pesticides available from the neem tree, *Azadirachta indica*, *Archives of insect Biochemistry and Physiology*, 22, 3- 4, 433-449.
- Atamanalp, M. ve Yanık, T., 2001. The Toxic Effects of Pesticides on Cyprinidae, *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18, 3.
- Atamanalp, M., 2000. Bir sentetik piretroit insektisitinin (Cypermethrin) sublethal dozlarının gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'na makroskopik, histopatolojik, hematolojik ve biyokimyasal etkileri. Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Atamanalp, M., Aksakal, E., Kocaman, E. M., Uçar, A., Şişman, T. ve Türkez, H. 2011. Kobalt klorite maruz kalan gökkuşağı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın kan parametrelerindeki değişimler, *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg*, 17, 573-576.
- Atamanalp, M., Yanık, T., Haliloglu, H.I. ve Aras, M.S., 2002. Alterations in the hematological parameters of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, exposed to cypermethrin, *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh* 54, 3, 2002, 99-103.
- Atay, D. ve Çelikkale, M.S., 1983. Sazan Üretim Tekniği. San Matbaası, 185.
- Atay, D., 1987. İçsu Balıkları ve Üretim Tekniği. Ank. Üniv., Ziraat Fak. Yayınları:1035, Ders Kitabı:300, 467.
- Aydın, F., 1984. Sazan Üretimi. İç Sularda Balık Yetiştiriciliği ve Sorunları Semineri, 8-9 Aralık 1983, Milli Prodüktivite Merkezi Yayınları, No:303, 104-128.
- Bado-Nilles, A., Quentel, C., Mazurais, D., Zambonino-Infante, J.L., Auffret, M., Thomas-Guyon, H. ve Le Floch, S., 2011. In vivo effects of the soluble fraction of light cycle oil on immune functions in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Linné), *Ecotoxicology and environmental safety*, 74, 7, 1896-1904.
- Bainy, A.C.D., Saito, E., Carvalho, P.S.M. ve Junqueira, V.B.C., 1996. Oxidative stress in gill, erythrocytes, liver and kidney of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from a polluted site, *Aquatic Toxicology*. 34, 151–162.
- Bakos, J., 1984. Technology For Fish Propagation. In: Inland Aquaculture Engineering, Edited by T. V. R. Pillay, Lectures Presented At The ADCP Inter-

Regional Training Course In Inland Aquaculture Engineering, Budapest, 6 June-3 September 1983, United Nations Development Programme, FAO, ADCP/REP/84/21, pp. 297-323.

Baldwin, D.H., Spromberg, J.A., Collier, T.K. ve Scholz, N.L., 2009. A fish of many scales: extrapolating sublethal pesticide exposures to the productivity of wild salmon populations, *Ecological Applications*, 19, 8, 2004-2015.

Balon, E.K., 1995. The common carp, *Cyprinus carpio*: its wild origin, domestication in aquaculture, and selection as colour nishikigoi, *Guelph Ichthyology Reviews* 3, 1-55.

Barceloux, D., 2008. *Medical Toxicology of Natural Substances*, John Wiley and Sons, Inc.

Barton B.A. ve Iwama G.K., 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids, *Annual Review of Fish Diseases*, 1, 3-26.

Barton, B.A., 2002. Stress in Fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids, *Integrative and comparative biology*, 42, 3, 517-525.

Başpınar, H., Durmuşoğlu E. ve Yıldırım E., 2010. Türkiye’de Tarım İlaçları Üretim ve Kullanımı, VII. Technical Congress of Agriculture Engineering Abstract Book-2, 1047-1054.

Bat, L., Erdem, Y., Ustaoglu, Tırıl, S. ve Yardım, Ö., 2008. *Balık Sistematığı Kitabı*, I. Basım, Nobel Yayınları, Ankara.

Beširović, H., Alić, A., Prašović, S. ve Drommer, W. 2010. Histopathological effects of chronic exposure to cadmium and zinc on kidneys and gills of brown trout (*Salmo trutta* m. fario), *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 10, 2, 255-262.

Beuge, J.A. ve Aust S.D., 1978. Microsomal lipids peroxidation, *Methods Enzymol*, 52, 302-310.

Biswas, K., Chattopadhyay, I., Banerjee, R.K. ve Bandyopadhyay, U., 2002. Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*), *Current Science-Bangalore*, 82, 11, 1336-1345.

Blaxhall, P.C., 1972. The haematological assessment of the health of freshwater fish, *Journal of fish biology*, 4, 4, 593-604.

Boada, L.D., Lara, P.C., Álvarez León, E.E., Losada, A., Zumbado, M., Limiñana Cañal, J.M., Apolinario, R., Serra Majem, L. ve Luzardo, O.P., 2007. Serum levels of insulinlike growth factor-I in relation to organochlorine pesticides exposure, *Growth Hormone & IGF Research*, 17, 6, 506-511.

- Boran, H., Altinok, I. ve Capkin, E., 2010. Histopathological changes induced by maneb and carbaryl on some tissues of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, Tissue and Cell, 42, 3, 158-164.
- Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Zanini, R., do Amaral, F., Jurinitz, D.F. ve Wassermann, G.F., 2007. Changes in hematological and serum biochemical values in jundiá *Rhamdia quelen* due to sublethal toxicity of cypermethrin, Chemosphere, 69, 6, 920-926.
- Bose, S., Nath, S. ve Sahana, S.S., 2011. Toxic impact of thiamethoxam on the growth performance and liver protein concentration of a freshwater fish *Oreochromis niloticus* (Trewavas). Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences, 1, 4, 274-280.
- Bradford, C.M., Rinchard, J., Carr, J.A. ve Theodorakis, C., 2005. Perchlorate affects thyroid function in eastern mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) at environmentally relevant concentrations, Environmental science & technology, 39, 14, 5190-5195.
- Brahmachari, G., 2004. Neem—an omnipotent plant: a retrospection, Chembiochem, 5, 4, 408-421.
- Brown, D.D., 1997. The role of thyroid hormone in zebrafish and axolotl development, Proceedings of the National Academy of Sciences, 94, 24, 13011-13016.
- Bucio, L., Souza, V., Albores, A., Sierra, A., Chavez, E., Carabez, A. ve Gutierrez-Ruiz, M. C., 1995. Cadmium and mercury toxicity in a human fetal hepatic cell line (WRL-68 cells), Toxicology, 102, 3, 285-299.
- Butchiram, M.S., Tilak, K.S. ve Raju, P.W., 2009. Studies on histopathological changes in the gill, liver and kidney of *Channa punctatus* (Bloch) exposed to Alachlor. J. Environ. Biol. 30, 2, 303-306.
- Capkin, E., Birincioglu, S. ve Altinok, I., 2009. Histopathological changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after exposure to sublethal composite nitrogen fertilizers, Ecotoxicology and environmental safety, 72, 7, 1999-2004.
- Casal, C.M.V., 2006. Global documentation of fish introductions: the growing crisis and recommendations for action, Biological invasions, 8, 1, 3-11.
- Cengiz, E.I., 2006. Gill and kidney histopathology in the freshwater fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin, Environmental Toxicology and Pharmacology, 22, 2, 200-204.
- Cengiz, E.I. ve Unlu, E., 2006. Sublethal effects of commercial deltamethrin on the structure of the gill, liver and gut tissues of mosquitofish, *Gambusia affinis*: a microscopic study, Environmental Toxicology and Pharmacology, 21, 3, 246-253.

- Cericato, L., Neto, J.G.M., Kreutz, L.C., Quevedo, R.M., Rosa, J.G.S., Koakoski, G., Centenaro, L., Pottker, E., Marqueze, A. ve Barcellos, L.J.G., 2009. Responsiveness of the interrenal tissue of Jundia (*Rhamdia quelen*) to an in vivo ACTH test following acute exposure to sublethal concentrations of agrichemicals, *Comp. Biochem. Physiol. C* 149, 363–367.
- Chen, D., Zhang, Z., Yao, H., Cao, Y., Xing, H. ve Xu, S., 2014. Pro-and anti-inflammatory cytokine expression in immune organs of the common carp exposed to atrazine and chlorpyrifos, *Pesticide biochemistry and physiology*, 114, 8-15.
- Chinabut, S., Limsuwan, C. ve Kanchanakhan, S., 1987. Toxic and sublethal effects of dipterex on fresh-water fishes, *Network of Agriculture Centers in Asia (NACA). WP/87/56*, Bangkok, Thailand.
- Choi W., Benzie F., Collins A., Hannigan M. ve Strain J., 2004. Vitamin C and E: Acute interactive effects on biomarkers of antioxidant defence and oxidative stress, *Mutation Research*, 551, 109-117.
- Coimbra, A.M., Reis-Henriques, M.A. ve Darras, V.M., 2005. Circulating thyroid hormone levels and iodothyronine deiodinase activities in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) following dietary exposure to Endosulfan and Aroclor 1254, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 141, 1, 8-14.
- Cuesta, A., Meseguer, J. ve Esteban, M.Á., 2008. Effects of the organochlorines p, p'-DDE and lindane on gilthead seabream leucocyte immune parameters and gene expression, *Fish & shellfish immunology*, 25, 5, 682-688.
- Çelikkale, M.S., 1988. İç Su Balıkları ve Yetiştiriciliği: Cilt II. KT Ü., Sürmene Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Yüksek Okulu, Genel Yayın, 128.
- Das, B.K., Mukherjee, S.C. ve Murjani, G., 2002. Acute toxicity of neem *Azadirachta indica* in Indian major carps, *Journal of Aquaculture in the Tropics*, 17, 1, 23-33.
- Davis, L.K., Visitacion, N., Riley, L.G., Hiramatsu, N., Sullivan, C.V., Hirano, T. ve Grau, E.G., 2009. Effects of o, p'-DDE, heptachlor, and 17 β -estradiol on vitellogenin gene expression and the growth hormone/insulin-like growth factor-I axis in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 149, 4, 507-514.
- Davoodi, R., 2012. A 72-hr median lethal concentration (MLC) of Neem for *Cyprinus carpio* Linn. (Cyprinidae) Juvenile, *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*, 2, 173–178.
- Debashri, M. ve Tamal, M., 2012. A Review on efficacy of *Azadirachta indica* A. Juss based biopesticides: An Indian perspective. *Research Journal of Recent Sciences*

- De Jussieu, A., 1830. Mémoire sur le groupe des Méliacées. Imprimerie de A. Firmin Didot.
- Dey, C. ve Saha, S.K., 2014. A comparative study on the acute toxicity bioassay of dimethoate and lambda-cyhalothrin and effects on thyroid hormones of freshwater teleost fish *Labeo rohita* (Hamilton), International Journal of Environmental Research, 8, 4, 1085-1092.
- Dick, P.T. ve Dixon, D.G., 1985. Changes in circulating blood cell levels of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, following acute and chronic exposure to copper, Journal of Fish Biology, 26, 4, 475-481.
- Diker K.S., 2005, İmmunoloji, 2. Baskı, Medisan, Ankara.
- Dogru, A., Akgul, H., Erdogan, K., Polat, H., Kandemir, S., Yilmaz, S., Dogru, M.I. ve Orun, I., 2014. The effects of terebinth extracts on common carp (*Cyprinus carpio* L.) serum growth hormone, IGF-1, serum glucose and total protein levels, Fresen Environ Bull, 23, 1997-2001.
- Dorval, J., ve Hontela, A., 2003. Role of glutathione redox cycle and catalase in defense against oxidative stress induced by endosulfan in adrenocortical cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Toxicology and applied pharmacology, 192, 2, 191-200.
- Dorval, J., Leblond, V.S. ve Hontela, A., 2003. Oxidative stress and loss of cortisol secretion in adrenocortical cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed in vitro to endosulfan, an organochlorine pesticide, Aquatic Toxicology, 63, 3, 229-241.
- Dunkel, F.V. ve Richards, D.C., 1998. Effect of an azadirachtin formulation on six nontarget aquatic macroinvertebrates, Environmental Entomology, 27,3, 667-674.
- Eder, K.J., Clifford, M.A., Hedrick, R.P., Köhler, H.R. ve Werner, I., 2008. Expression of immune-regulatory genes in juvenile Chinook salmon following exposure to pesticides and infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV), Fish & shellfish immunology, 25, 5, 508-516.
- El-Badawi, A.A., 2015. Antioxidant Activity of Lupine Seeds in Nile Tilapia Fish (*O. niloticus*) Suspected to Oxidative Stress Induced by Neemazal T/S, International Journal of Applied Sciences and Biotechnology, 3, 2, 170-178.
- Erdoğan, P., 2013. Bitkisel İnsektisitlerin Özellikleri ve Zararlılara Etkisi, Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi, 3, 2, 14-25.
- Etherton, T.D., 1993. Insulin-like growth factors: role in growth and development, In The Endocrinology of Growth, Development, and Metabolism in Vertebrates, 197-217.

- Evans, D.H., 1987. The fish gill: site of action and model for toxic effects of environmental pollutants. *Environmental Health Perspectives*, 71, 47-58.
- Fang, Y.Z., Yang, S. ve Wu, G., 2002. Free radicals, antioxidants and nutrition, *Nutrition*, 18, 872-879.
- Farombi, E.O., Ajimoko, Y.R., ve Adelowo, O.A., 2008. Effect of Butachlor on antioxidant enzyme status and lipid peroxidation in fresh water African Catfish (*Clarias gariepinus*), *International journal of environmental research and public health*, 5, 5, 423-427.
- Ferrari, A., Venturino, A. ve de D'Angelo, A. M. P., 2007. Effects of carbaryl and azinphos methyl on juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) detoxifying enzymes. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88, 2, 134-142.
- Fırat, Ö., Cogun, H. Y., Yüzereroğlu, T. A., Gök, G., Fırat, Ö., Kargin, F. ve Kötemen, Y., 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, 3, 657-666.
- Fulekar, M.H., 2005. *Environmental Biotechnology*, Oxford and IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi.
- Ghanbahadur, A. ve Ghanbahadur, G., 2012. Histopathological effect of organochloride endosulfan on intestine and stomach of larvivorous fish *Rasbora daniconius*. *DAV Int J Sci*, 1, 126-127.
- Gholami-Seyedkolaei, S.J., Mirvaghefi, A., Farahmand, H. ve Kosari, A.A., 2013. Effect of a glyphosate-based herbicide in *Cyprinus carpio*: Assessment of acetylcholinesterase activity, hematological responses and serum biochemical parameters, *Ecotoxicology and environmental safety*, 98, 135-141.
- Gill, R.J. ve Raine, N.E., 2014. Chronic impairment of bumblebee natural foraging behaviour induced by sublethal pesticide exposure, *Functional Ecology*, 28, 6, 1459-1471.
- Gohel, P.D. ve Dodia, P.P., 2015. Toxicity Evaluation and Behavioural Studies of Fresh Water Fish *Labeo rohita* Exposed To Cypermethrin (Synthetic Pyrethroid), *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*, 6, 2.
- Gök, V., Kayacıer, A. ve Telli, R., 2006. Hayvansal ve mikrobiyal kaynaklı doğal antioksidanlar, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2, 35-40.
- Grau, E.G., Brown, C.L. ve Stetson, M.H., 1985. Photoperiodicregulation of thyroid responsiveness to TSH in *Fundulusheteroclitus*, *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 234, 2, 199-205.

- Gultekin, F., Ozturk, M. ve Akdogan, M., 2000. The effect of organophosphate insecticide chlorpyrifos-ethyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes (in vitro), Archives of toxicology, 74, 9, 533-538.
- Hanson, R., Dodoo, D.K., Essumang, D.K., Blay, J. ve Yankson, K., 2007. The effect of some selected pesticides on the growth and reproduction of fresh water *Oreochromis niloticus*, *Chrysichthys nigrodigitatus* and *Clarias gariepinus*, Bulletin of environmental contamination and toxicology, 79, 5, 544-547.
- Harikrishnan, R., Rani, M.N. ve Balasundaram, C., 2003. Hematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection, Aquaculture, 221,1-4, 41-50.
- He, C., Zuo, Z., Shi, X., Sun, L. ve Wang, C., 2012. Pyrene exposure influences the thyroid development of *Sebastiscus marmoratus* embryos, Aquatic toxicology, 124, 28-33.
- Heath, A.G., 1995. Water Pollution and Fish Physiology, second ed. Lewis Publishers, Boca Raton.
- Hernández-Moreno, D., de la Casa-Resino, I., Flores, J.M., González-Gómez, M.J., Neila, C.M., Soler, F. ve Pérez-López, M., 2014. Different enzymatic activities in carp (*Cyprinus carpio* L.) as potential biomarkers of exposure to the pesticide methomyl, Arhiv za higijenu rada i toksikologiju, 65, 3, 311-317.
- Hickey, C.R., 1976. Fish haematology, its uses and significance, NY Fish Game J, 23, 2, 170-175.
- Hontela, A., 2005. Adrenal toxicology: environmental pollutants and the HPI axis. In: Mommsen TP, Moon TW (eds) Biochemistry and molecular biology of fishes, vol 6. Elsevier BV, Amsterdam, 331–363.
- Iwama, K.G., 2004. Stress in fish. Fish Biology Fisheries. 8, 1, 35-56.
- Jayaprakash, C. ve Shettu, N., 2013. Changes in the hematology of the freshwater fish, *Channa punctatus* (Bloch) exposed to the toxicity of deltamethrin, Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 5,6, 178-183.
- Jin, Y., Liu, Z., Peng, T. ve Fu, Z., 2015. The toxicity of chlorpyrifos on the early life stage of zebrafish: a survey on the endpoints at development, locomotor behavior, oxidative stress and immunotoxicity, Fish & shellfish immunology, 43, 2, 405-414.
- Kakucska, I., Romero, L.I., Clark, B.D., Rondeel, J.M., Qi, Y., Alex, S., Emerson C.H. ve Lechan, R.M., 1994. Suppression of Thyrotropin-Releasing Hormone Gene Expression by Interleukin-1-Beta in the Rat: Implications for Nonthyroidal Illness, Neuroendocrinology, 59, 2, 129-137.

- Kavitha, P., ve Rao, J. V., 2008. Toxic effects of chlorpyrifos on antioxidant enzymes and target enzyme acetylcholinesterase interaction in mosquito fish, *Gambusia affinis*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 26, 2, 192-198.
- Kavitha, C., Malarvizhi, A., Kumaran, S. S. ve Ramesh, M., 2010. Toxicological effects of arsenate exposure on hematological, biochemical and liver transaminases activity in an Indian major carp, *Catla catla*, *Food and Chemical Toxicology*, 48, 10, 2848-2854.
- Kelly, G., 2000. Peripheral metabolism of thyroid hormones: a review. *Alternative medicine review*, 54, 306-306.
- Keramati, V., Jamili, S. ve Ramin, M., 2010. Effect of diazinon on catalase antioxidant enzyme activity in liver tissue of *Rutilus rutilus*. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 5, 5, 368-376.
- Khalid, S., ve Shad, R.A., 1991. Potential advantage of recent allelochemical discoveries in agro-ecosystems, *Progressive Farming*.
- Khan, M.Z. ve Law, F.C., 2005. Adverse effects of pesticides and related chemicals on enzyme and hormone systems of fish, amphibians and reptiles: a review, *Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences*, 42, 4, 315-323.
- Khater, H.F., 2012. Ecosmart biorational insecticides: alternative insect control strategies, In *Insecticides-Advances in Integrated Pest Management*, InTech.
- Kim, I.B., Jo, J. Y. ve Choi, J. Y., 1975. Rearing Experiment Of Common Carp In Brackish Water, *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 8, 3, 181-184.
- Kirpichnikov, V.S., 1999. Genetics and breeding of common carp. *Quae*.
- Koakoski, G., de Abreu, M.S., da Cruz, C., Silva, D.R., Carraschi, S.P., Kreutz, L.C. ve Barcellos, L.J.G., 2013. Cortisol response in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., following acute exposure to a glyphosate-based herbicide, *Environmental Sciences*, 25-32.
- Koehn, J.D., 2004. Carp (*Cyprinus carpio*) as a powerful invader in Australian waterways, *Freshwater biology*, 49, 7, 882-894.
- Kumar, A., Prasad, M., Mishra, D., Srivastav, S.K. ve Srivastav, A.K., 2012. Acute toxicity of azadirachtin to a teleost, *Heteropneustes fossilis*, *Acta Scientiarum Biological Sciences*, 2, 213-216.
- Kumar, A., Prasad, M. R., Srivastava, K., Srivastav, S. K., Suzuki, N., ve Srivastav, A.K., 2013. Cyto-histopathological alterations in the liver of azadirachtin treated catfish, *Heteropneustes fossilis*, *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 83, 4, 609-613.

- Kuşatan, Z. ve Cıık, B., 2004. *Clarias lazera* (Valenciennes, 1840)'da kadmiyumun solungaç, karaciğer, böbrek, dalak ve kas dokularındaki birikimi, Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 2, 3, 59-66.
- Lal, B., Sarang, M. K. ve Kumar, P., 2013. Malathion exposure induces the endocrine disruption and growth retardation in the catfish, *Clarias batrachus* (Linn.). General and comparative endocrinology, 181, 139-145.
- Lawrance, R.A. ve Burk, R.F., 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver, Biochemical and biophysical research communications, 71, 4, 952-958.
- Lease, H.M., Hansen, J.A., Bergman, H.L. ve Meyer, J.S., 2003. Structural changes in gills of Lost River suckers exposed to elevated pH and ammonia concentrations, Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 134, 4, 491-500.
- LeNoir, J.S., McConnell, L.L., Fellers, G.M., Cahill, T.M. ve Seiber, J.N., 1999. Summertime transport of current- use pesticides from California's Central Valley to the Sierra Nevada Mountain Range, USA, Environmental Toxicology and Chemistry, 18, 12, 2715-2722.
- Li, Z.H., Velisek, J., Grabic, R., Li, P., Kolarova, J. ve Randak, T., 2011. Use of hematological and plasma biochemical parameters to assess the chronic effects of a fungicide propiconazole on a freshwater teleost, Chemosphere, 83, 4, 572-578.
- Liang, X., Yu, L., Gui, W. ve Zhu, G., 2015. Exposure to difenoconazole causes changes of thyroid hormone and gene expression levels in zebrafish larvae Environmental toxicology and pharmacology, 40, 3, 983-987.
- Lipika, P. ve Patra, A. 2006. Haemoatopoietic alterations induced by Carbaryl in *Clarias batrachus* (LINN), Journal of Applied Sciences and Environmental Management, 10, 3, 5-7.
- Liu, S., Chang, J., Zhao, Y. ve Zhu, G., 2011. Changes of thyroid hormone levels and related gene expression in zebrafish on early life stage exposure to triadimefon. Environmental toxicology and pharmacology, 32, 3, 472-477.
- Luck, H., 1963. Catalase spectrometric method. Methods in Enzymatic analysis.
- Mahboob, M., Siddiqui, M.K.J. ve Jamil, K., 1998. The effect of subacute administration of a neem pesticide on rat metabolic enzymes, Journal of Environmental Science & Health Part B, 33, 4, 425-438.
- Mamatha, P. ve Mohan, M.R., 2014. Detection of biopesticide Azadirachtin and analysis of gill tissues of the fish *Glossogobius giuri* using HPCL, Advances in Forestry Science, 1, 3, 83-88.

- Marchand, M.J., Van Dyk, J.C., Pieterse, G.M., Barnhoorn, I.E.J. ve Bornman, M.S., 2009. Histopathological alterations in the liver of the sharptooth catfish *Clarias gariepinus* from polluted aquatic systems in South Africa, *Environmental toxicology*, 24, 2, 133-147.
- Martinez, C.B.R., Nagae, M.Y., Zaia C.T.B.V. ve Zaia D.A.M., 2004. Acute morphological and physiological effects of lead in the Neotropical fish, *Prochilodus lineatus*, *Brazilian Journal of Biology*, 64, 4, 797-807.
- Martinez, C.B.R. ve Souza, M.M., 2002. Acute effects of nitrite on ion regulation in two neotropical fish species. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 133, 1, 151-160.
- Marutirao, G.R., 2012. Histopathological changes in the gills of *Puntius ticto* (Ham) under Dimethoate toxicity, *Bioscan*, 7, 3, 423-426.
- McConnell, L.L., LeNoir, J.S., Datta, S. ve Seiber, J.N., 1998. Wet deposition of current- use pesticides in the Sierra Nevada mountain range, California, USA, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17, 10, 1908-1916.
- McCord, J.M. ve Fridovich, I., 1969. Superoxide dismutase: an enzymatic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J Bio Chem* 244, 6049–6055.
- Miwa, S. ve Inui, Y., 1987. Effects of various doses of thyroxine and triiodothyronine on the metamorphosis of flounder (*Paralichthys olivaceus*). *General and comparative endocrinology*, 67, 3, 356-363.
- Modesto, K.A. ve Martinez, C.B., 2010. Effects of Roundup Transorb on fish: hematology, antioxidant defenses and acetylcholinesterase activity, *Chemosphere*, 81, 6, 781-787.
- Mommsen, T.P., Vijayan, M.M. ve Moon, T.W., 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 9, 3, 211-268.
- Mondal, D., Barat, S. ve Mukhopadhyay, M.K., 2007. Toxicity of neem pesticides on a fresh water loach, *Lepidocephalichthys guntea* (Hamilton Buchanan) of Darjeeling district in West Bengal. *Journal of Environmental Biology*, 28, 1, 119-122.
- Monteiro, S.M., Mancera, J.M., Fernandes, A.F. ve Sousa, M., 2005. Copper induced alterations of biochemical parameters in the gill and plasma of *Oreochromis niloticus*, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 141, 4, 375-383.
- Monteiro, D.A., De Almeida, J.A., Rantin, F.T. ve Kalinin, A.L., 2006. Oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish, *Brycon cephalus*, exposed to organophosphorus insecticide Folisuper 600 (methyl parathion), *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 143, 2, 141-149.

- Mordue, A.J. ve Blackwell, A., 1993. Azadirachtin: an update, *Journal of insect physiology*, 39, 11, 903-924.
- Morgan, J.D. ve Iwama, G.K., 2011. Measurements of stressed states in the field, *Fish stress and health in aquaculture*, 62, 247-268.
- Moriyama, S., Ayson, F. G. ve Kawauchi, H., 2000. Growth regulation by insulin-like growth factor-I in fish, *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 64, 8, 1553-1562.
- Mortimer, R.H., 2011. Thyroid function tests, *Australian Prescriber*, 34, 1, 12-15.
- Möstl, E. ve Palme, R., 2002. Hormones as indicators of stress, *Domestic animal endocrinology*, 23, 1-2, 67-74.
- Murussi, C.R., Menezes, C.C., Nunes, M.E., Araújo, M.D.C.S., Quadros, V.A., Rosemberg, D.B. ve Loro, V.L., 2016. Azadirachtin, a neem- derived biopesticide, impairs behavioral and hematological parameters in carp (*Cyprinus carpio*). *Environmental toxicology*, 31, 11, 1381-1388.
- Naveed, A., Janaiah, C. ve Adilabad, A.P., 2011. Effect of triazophos on protein metabolism in the fish, *channa punctatus* (Bloch), *Curr. Res. J. Biol. Sci*, 3, 124-128.
- Nieves-Puigdoller, K., Björnsson, B. T. ve McCormick, S.D., 2007. Effects of hexazinone and atrazine on the physiology and endocrinology of smolt development in Atlantic salmon, *Aquatic Toxicology*, 84, 1, 27-37.
- Nugegoda, D. ve Kibria, G., 2017. Effects of environmental chemicals on fish thyroid function: implications for fisheries and aquaculture in Australia, *General and comparative endocrinology*, 244, 40-53.
- Nwani, C.D., Ugwu, D.O., Okeke, O.C., Onyishi, G.C., Ekeh, F.N., Atama, C. ve Eneje, L.O., 2013. Toxicity of the chlorpyrifos-based pesticide Termifos®: effects on behaviour and biochemical and haematological parameters of African catfish *Clarias gariepinus*, *African journal of aquatic science*, 38, 3, 255-262.
- Okomoda, V.T., Ataguba, G.A. ve Ayuba, V.O., 2013. Hematological response of *Clarias gariepinus* fingerlings exposed to acute concentrations of sunsate®, *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 9, 2.
- Oladimeji, A.A. ve Ologunmeta, R.T., 1987. Toxicity of water-borne lead to *Tilapia niloticus*. *Nig. J. Applied Fish. Hydrobiol*, 2, 19-24.
- Oliveira, M., Serafim, A., Bebianno, M.J., Pacheco, M. ve Santos, M.A., 2008. European eel (*Anguilla anguilla* L.) metallothionein, endocrine, metabolic and genotoxic responses to copper exposure, *Ecotoxicology and environmental safety*, 70, 1, 20-26.

- Oliveira, M., Pacheco, M. ve Santos, M.A., 2011. Fish thyroidal and stress responses in contamination monitoring—An integrated biomarker approach, *Ecotoxicology and environmental safety*, 74, 5, 1265-1270.
- Olsson, K. ve Dahlborn, K., 1989. Fluid balance during heat stress in lactating goats, *Experimental Physiology*, 74, 5, 645-659.
- Olsson, K. ve Dahlborn, K., 2007. Fluid balance during heat stress in lactating goats, *Experimental Physiology*, 74, 5, 645-659.
- Oppenheim, J.J. ve Shevach, E.M., 1991. Immunophysiology: the role of cells and cytokines in immunity and inflammation. Oxford University Press, USA.
- Oruç, E. Ö. ve Usta, D., 2007. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*. *Environmental toxicology and pharmacology*, 23, 1, 48-55.
- Orun, I., Dogru, M. I., Erdogan, K., Dogru, A., Ongun, A., Yuksel, E. ve Talas, Z.S., 2013. Effects of acute and chronic exposure to glyphosate on common carp (*Cyprinus carpio* L.) hematological parameters: the beneficial effect of propolis, *Fresenius Environmental Bulletin*, 9, 2504-2509.
- Osman, A. G., Abd-El-Baset, M., AbuelFadl, K. Y., ve GadEl-Rab, A. G. (2010). Enzymatic and histopathologic biomarkers as indicators of aquatic pollution in fishes. *Natural Science*, 2(11), 1302.
- Örün, İ., 2000. Karakaya Baraj Gölünde Yaşayan ve Ekonomik Öneme Sahip Bazı Balıkların [*Acanthobrama marmid* Heckel, 1843, *Leuciscus cephalus orientalis* (Nordmann, 1840), *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843), *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) ve *Capoeta capoeta umbla* (Heckel, 1843) Hematolojik Yönden İncelenmesi, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Özger, Ş., Daniel P.O.H.L. ve Karaca, İ., 2013. Neem ekstraktların biyoinsektisit olarak kullanımı, *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 4, 2, 165-178.
- Palm, A., Tuvikene, A. ve Krause, T., 1992. Changes in haematological characteristics of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walb.) reared in the mixture of natural and oil-shale mine drainage water, In *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences, Biology*, 41, 4, 183-188.
- Pandey, S., Parvez, S., Sayeed, I., Haque, R., Bin-Hafeez, B. ve Raisuddin, S., 2003. Biomarkers of oxidative stress: a comparative study of river Yamuna fish Wallago attu (Bl. & Schn.), *Science of the total environment*, 309, 1-3, 105-115.
- Patiño, R., Wainscott, M. R., Cruz- Li, E.I., Balakrishnan, S., McMurry, C., Blazer, V. S. ve Anderson, T.A., 2003. Effects of ammonium perchlorate on the reproductive performance and thyroid follicle histology of zebrafish, *Environmental toxicology and chemistry*, 22, 5, 1115-1121.

- Peixoto, F., Alves-Fernandes, D., Santos, D. ve Fontáinhas-Fernandes, A., 2006. Toxicological effects of oxyfluorfen on oxidative stress enzymes in tilapia *Oreochromis niloticus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 85, 2, 91-96.
- Pereira, L., Fernandes, M.N. ve Martinez, C.B., 2013. Hematological and biochemical alterations in the fish *Prochilodus lineatus* caused by the herbicide clomazone, *Environmental toxicology and pharmacology*, 36, 1, 1-8.
- Prashanth, M.S., Sayeswara, H.A. ve Goudar, M.A., 2011. Free cyanide induced physiological changes in the freshwater fish, *Poecilia reticulata*, *Journal of Experimental Sciences*, 2, 2.
- Ramah, K., 2011. Histopathological study on the effect of rice herbicides on grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), *African Journal of biotechnology*, 10, 7, 1112-1116.
- Reinecke, M., 2010. Influences of the environment on the endocrine and paracrine fish growth hormone–insulin- like growth factor- I system, *Journal of fish biology*, 76, 6, 1233-1254.
- Reinecke, M., Björnsson, B.T., Dickhoff, W.W., McCormick, S.D., Navarro, I., Power, D.M. ve Gutiérrez, J., 2005. Growth hormone and insulin-like growth factors in fish: where we are and where to go. *General and comparative endocrinology*, 142, 1-2, 20-24.
- Roberts, R.J., 2001. The anatomy and physiology of teleosts, *Fish pathology*, Ed. 3, 12-54.
- Rohr, J.R. ve Crumrine, P.W., 2005. Effects of an herbicide and an insecticide on pond community structure and processes, *Ecological Applications*, 15, 4, 1135-1147.
- Rohr, J.R., Raffel, T.R., Sessions, S.K. ve Hudson, P.J., 2008. Understanding the net effects of pesticides on amphibian trematode infections. *Ecological Applications*, 18, 7, 1743-1753.
- Ruskin, F.R., 1992. *Neem: A tree for solving global problems*, National Academy Press, Washington, 31-39.
- Saha, S., Walia, S. ve Parmar, B.S., 2011. Exploring the diversity of neem bioactives as eco-benign pesticides: a reappraisal, *Toxicological & Environmental Chemistry*, 93, 8, 1508-1546.
- Sakamoto, T. ve McCormick, S.D., 2006. Prolactin and growth hormone in fish osmoregulation, *General and comparative endocrinology*, 147, 1, 24-30.
- Salako, E.A., 2002. Plant protection for the resource-poor farmers: A key note address at the Nigerian Society for Plant Protection (NPSS), In 30th Annual Conference held on Sept., 1st–4th, 1-11.

- Saravanan, M., Hur, J. H., Arul, N. ve Ramesh, M., 2014. Toxicological effects of clofibric acid and diclofenac on plasma thyroid hormones of an Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* during short and long-term exposures, *Environmental toxicology and pharmacology*, 38, 3, 948-958.
- Saravanan, M., Ramesh, M., Malarvizhi, A. ve Petkam, R., 2011. Toxicity of Neem Leaf Extracts (*Azadirachta indica* A. Juss) on Some Haematological, Ionoregulatory, Biochemical and Enzymological Parameters of Indian Major Carp, *Cirrhinus mrigala*, *Journal of Tropical Forestry and Environment*, 1, 1.
- Satyavardhan, K., 2013. A Comparative Toxicity Evaluation and behavioral observations of fresh water fishes to Fenvalerate, *Middle East Journal of Scientific Research*, 13, 2, 133-136.
- Sayeed, I., Parvez, S., Pandey, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R. ve Raisuddin, S., 2003. Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch, *Ecotoxicology and environmental safety*, 56, 2, 295-301.
- Schreck, C.B., 1990. Physiological, behavioral, and performance indicators of stress, In *American Fisheries Society Symposium*, 8, 29-37.
- Scott, I.M. ve Kaushik, N.K., 2000. The toxicity of a neem insecticide to populations of Culicidae and other aquatic invertebrates as assessed in in situ microcosms. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 39, 3, 329-336.
- Secoy, D.M. ve Smith, A.E., 1983. Use of plants in control of agricultural and domestic pests. *Economic Botany*, 37, 1, 28-57.
- Sepici-Dinçel, A., Benli, A. Ç. K., Selvi, M., Sarıkaya, R., Şahin, D., Özkul, I. A. ve Erkoç, F., 2009. Sublethal cyfluthrin toxicity to carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings: biochemical, hematological, histopathological alterations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 5, 1433-1439.
- Sepici-Dinçel, A., Sarıkaya, R., Selvi, M., Şahin, D., Benli, Ç. K. ve Atalay-Vural, S. 2007. How sublethal fenitrothion is toxic in carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings, *Toxicology mechanisms and methods*, 17, 8, 489-495.
- Shahi, J., Chauhan, S. ve Singh, A., 2013. Comparative study on the haematological effect of synthetic and plant origin pesticides on fish *Channa punctatus*, 4, 1, 48-53.
- Sharma, D.K. ve Ansari, B.A., 2014. Toxicity of azadirachtin on some biomarkers of oxidative stress in zebrafish, *Danio rerio*, *Journal of Biology and Earth Sciences*, 4, 2, 160-167.
- Shen, H.M. ve Liu, Z.G., 2006. JNK signaling pathway is a key modulator in cell death mediated by reactive oxygen and nitrogen species, *Free Radical Biology and Medicine*, 40, 6, 928-939.

- Shiogiri, N.S., Paulino, M.G., Carraschi, S.P., Baraldi, F.G., da Cruz, C. ve Fernandes, M.N., 2012. Acute exposure of a glyphosate-based herbicide affects the gills and liver of the Neotropical fish, *Piaractus mesopotamicus*, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 34, 2, 388-396.
- Sies, H., 1997. Oxidative stress: oxidants and antioxidants, *Experimental physiology*, 82, 2, 291-295.
- Singh R., Singh B. ve Verma R.A., 2001. Efficiency of different indigenous plant products as grain protectant against *Callosobruchus chinensis* Linn. on pea., *Indian J. Entomol.*, 63, 179-181.
- Singh, R.N., 2013. Effects of dimethoate (30% EC), an organophosphate pesticide on liver of common carp, *Cyprinus carpio*, *Journal of Environmental Biology*, 34, 3, 657.
- Singh, R.P., Chari, M.S., Raheja, A.K. ve Kraus, W., 1996. *Neem and Environment*, Vols I and II, pp. 1–1198, Oxford & IBH Publishing, New Dehli.
- Sinha, N., Lal, B. ve Singh, T.P., 1991. Carbaryl-induced thyroid dysfunction in the freshwater catfish *Clarias batrachus*, *Ecotoxicology and environmental safety*, 21, 3, 240-247.
- Slaninova, A., Smutna, M., Modra, H. ve Svobodova, Z., 2009. Reviews Oxidative stress in fish induced by pesticides, *Neuroendocrinology Letters*, 30, 1, 2.
- Smith, R.F. ve Dobson, H., 2002. Hormonal interactions within the hypothalamus and pituitary with respect to stress and reproduction in sheep, *Domestic Animal Endocrinology*, 23, 1-2, 75-85.
- Song, S. B., Xu, Y. ve Zhou, B. S., 2006. Effects of hexachlorobenzene on antioxidant status of liver and brain of common carp (*Cyprinus carpio*). *Chemosphere*, 65, 4, 699-706.
- Srivastava, A.K., Mishra, D., Shrivastava, S., Srivastav, S.K. ve Srivastav, A.K., 2010. Acute toxicity and behavioural responses of *Heteropneustes fossilis* to an organophosphate insecticide, dimethoate, *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1, 4, 359-363.
- Steenland, K., Cedillo, L., Tucker, J., Hines, C., Sorensen, K., Deddens, J. ve Cruz, V., 1997. Thyroid hormones and cytogenetic outcomes in backpack sprayers using ethylenebis (dithiocarbamate)(EBDC) fungicides in Mexico, *Environmental health perspectives*, 105, 10, 1126.
- Sumpter, J.P., Le Bail, P.Y., Pickering, A.D., Pottinger, T.G. ve Carragher, J.F., 1991. The effect of starvation on growth and plasma growth hormone concentrations of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, *General and comparative Endocrinology*, 83, 1, 94-102.

- Sundaram, K.M., 1996. Azadirachtin biopesticide: a review of studies conducted on its analytical chemistry, environmental behaviour and biological effects, *Journal of Environmental Science & Health Part B*, 31, 4, 913-948.
- Suvetha, L., Ramesh, M. ve Saravanan, M., 2010. Influence of cypermethrin toxicity on ionic regulation and gill Na⁺/K⁺-ATPase activity of a freshwater teleost fish *Cyprinus carpio*, *Environmental toxicology and pharmacology*, 29, 1, 44-49.
- Suvetha, L., Saravanan, M., Hur, J. H., Ramesh, M. ve Krishnapriya, K., 2015. Acute and sublethal intoxication of deltamethrin in an Indian major carp, *Labeo rohita*: Hormonal and enzymological responses, *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 72, 58-65.
- Sweilum, M.A., 2006. Effect of sublethal toxicity of some pesticides on growth parameters, haematological properties and total production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) and water quality of pond. *Aquaculture Research*, 37, 11, 1079-1089.
- Tagawa, M. ve Hirano, T., 1991. Effects of thyroid hormone deficiency in eggs on early development of the medaka, *Oryzias latipes*. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 257, 3, 360-366.
- Talas, Z.S., Gulhan, M.F., Erdogan, K. ve Orun, I., 2014. Antioxidant effects of propolis on carp *Cyprinus carpio* exposed to arsenic: biochemical and histopathologic findings, *Diseases of aquatic organisms*, 108, 3, 241-249.
- Talas, Z.S. ve Gulhan, M.F., 2009. Effects of various propolis concentrations on biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72,7, 1994-1998.
- Tang, X., Zhu, B. ve Katou, H., 2012. A review of rapid transport of pesticides from sloping farmland to surface waters: Processes and mitigation strategies, *Journal of Environmental Sciences*, 24, 3, 351-361.
- Tavares Dias, M. ve Ruas de Moraes, F., 2006. Hematological parameters for the Brycon orbignyanus Valenciennes, 1850 (Osteichthyes: Characidae) intensively bred. *Hidrobiológica*, 16, 3.
- Teles, M., Oliveira, M., Pacheco, M. ve Santos, M.A., 2005. Endocrine and metabolic changes in *Anguilla anguilla* L. following exposure to β -naphthoflavone—a microsomal enzyme inducer, *Environment international*, 31, 1, 99-104.
- Thangavel, P., Sumathirai, K., Karthikeyan, S. ve Ramaswamy, M., 2005. Endocrine response of the freshwater teleost, *Sarotherodon mossambicus* (Peters) to dimecron exposure, *Chemosphere*, 61, 1083–1092.
- Tiryaki, O., Canhilal, R. ve Horuz, S., 2010. Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26, 2, 154-169.

- Todini, L., Delgadillo, J.A., Debenedetti, A. ve Chemineau, P., 2006. Plasma total T3 and T4 concentrations in goats at different physiology stages, as affected by the energy intake. *Small Ruminant Research*, 68, 3, 285-290.
- Toros, S. ve Maden, S., 1991. *Tarımsal Savaşım Yöntem ve İlaçları*, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yay, 1222, 332.
- Tu, W., Xu, C., Lu, B., Lin, C., Wu, Y. ve Liu, W., 2016. Acute exposure to synthetic pyrethroids causes bioconcentration and disruption of the hypothalamus–pituitary–thyroid axis in zebrafish embryos. *Science of the total environment*, 542, 876-885.
- Ufodike, E.B.C. ve Omoregie, E., 1990. Acute toxicity of Gammalin 20 and Actellic 25 EC to *Oreochromis niloticus niloticus*, *Acta Hydrobiologica*, 32, 3/4, 447-455.
- URL-1 < <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/image/fl.html?cid=5281303>>, alındığı tarih: 20.05.2018.
- URL-2 < <http://fishesofaustralia.net.au/home/species/3964>>, alındığı tarih: 20.05.2018.
- URL-3 < <https://step1.medbullets.com/endocrine/109008/cortisol>>, alındığı tarih: 20.05.2018.
- Uysal, K., Emre, Y. ve Köse, E., 2008. The determination of heavy metal accumulation ratios in muscle, skin and gills of some migratory fish species by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) in Beymelek Lagoon (Antalya/Turkey), *Microchemical journal*, 90, 1, 67-70.
- Üçüncü, S.İ., Ergen, G., Önen, Ö., Tekkan, B. K., Üreten, M., Boz, E., Seferoğlu, K. ve Gökçe, B., 2010. Dioktil adipat'ın (DOA) *Labidochromis caeruleus* Fryer, 1956 (Cichlidae, Teleostei) karaciğer histolojisi üzerindeki etkileri. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg*, 16, 197-203.
- Vaiyanan, V., Sridharan, G., Raveendran, S. ve Chairman, K., 2015. Impact of pesticide on haematological parameters of *Cyprinus carpio*. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical sciences* 4, 8, 1424-1430.
- Van der Nat, J.M., Van der Sluis, W.G., Van Dijk, H., De Silva, K.T.D. ve Labadie, R.P., 1991. Activity-guided isolation and identification of *Azadirachta indica* bark extract constituents which specifically inhibit chemiluminescence production by activated human polymorphonuclear leukocytes, *Planta medica*, 57, 01, 65-68.
- Van der Oost, R., Beyer, J. ve Vermeulen, N.P., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review, *Environmental toxicology and pharmacology*, 13, 2, 57-149.

- Velisek, J., Stara, A., Zuskova, E. ve Svobodova, Z., 2013. Use of biometric, hematologic, and plasma biochemical variables, and histopathology to assess the chronic effects of the herbicide prometryn on Common carp, *Veterinary clinical pathology*, 42, 4, 508-515.
- Velisek, J., Wlasow, T., Gomulka, P., Svobodova, Z., Dobsikova, R., Novotny, L. ve Dudzik, M., 2006. Effects of cypermethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Veterinarni Medicina-Praha-*, 51, 10, 469-476.
- Velkova-Jordanoska, L.I.D.I.J.A. ve Kostoski, G., 2005. Histopathological analysis of liver in fish (*Barbus meridionalis petenyi* Heckel) in reservoir Trebeništa, *Natura Croatica: Periodicum Musei Historiae Naturalis Croatici*, 14, 2, 147-153.
- Vijayan, M.M., Reddy, P.K., Leatherland, J.F. ve Moon, T.W., 1994b. The effects of cortisol on hepatocyte metabolism in rainbow trout: a study using the steroid analogue RU486, *General and comparative endocrinology*, 96, 1, 75-84.
- Walsh, A. H. ve Ribelin, W.E., 1975. The pathology of pesticide poisoning, *The pathology of pesticide poisoning*, 515-557.
- Walter, J.F., 1999. Commercial experience with neem products, In *Biopesticides: use and delivery*, Humana Press, 155-170.
- Wan, M.T., Watts, R.G., Isman, M.B. ve Strub, R., 1996. Evaluation of the acute toxicity to juvenile pacific northwest salmon of azadirachtin, neem extract, and neem-based products, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 56, 3, 432-439.
- Wang, Q., Lai, N. L. S., Wang, X., Guo, Y., Lam, P. K. S., Lam, J. C. W. ve Zhou, B., 2015. Bioconcentration and transfer of the organophorous flame retardant 1, 3-dichloro-2-propyl phosphate causes thyroid endocrine disruption and developmental neurotoxicity in zebrafish larvae, *Environmental science & technology*, 49, 8, 5123-5132.
- Wang, X., Xing, H., Li, X., Xu, S. ve Wang, X., 2011. Effects of atrazine and chlorpyrifos on the mRNA levels of IL-1 and IFN- γ 2b in immune organs of common carp. *Fish & shellfish immunology*, 31, 1, 126-133.
- Weber, M.J. ve Brown, M.L., 2009. Effects of common carp on aquatic ecosystems 80 years after "carp as a dominant": Ecological insights for fisheries management, *Reviews in Fisheries Science*, 17, 4, 524-537.
- Wei, Y., Liu, Y., Wang, J., Tao, Y. ve Dai, J., 2008. Toxicogenomic analysis of the hepatic effects of perfluorooctanoic acid on rare minnows (*Gobiocypris rarus*), *Toxicology and applied pharmacology*, 226, 3, 285-297.
- Wendelaar Bonga, S.E., 1997. The stress response in fish, *Physiological reviews*, 77,3, 591-625.

- Whalon, M.E., Mota-Sanchez, D., Hollingworth, R. M., Whalon, M. E., Mota-Sanchez, D. ve Hollingworth, R.M., 2008. Analysis of global pesticide resistance in arthropods, *Global pesticide resistance in arthropods*, 5–31.
- Wiersinga, W.M., 2000. Nonthyroidal illness, In *The Thyroid*, edn 7, 281–295. Eds LE Braverman & RD Utiger. Philadelphia: Lippincott.
- Winkaler, E.U., Santos, T.R., Machado-Neto, J.G. ve Martinez, C.B., 2007. Acute lethal and sublethal effects of neem leaf extract on the neotropical freshwater fish *Prochilodus lineatus*, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 145, 2, 236-244.
- Yadav, A.K. ve Singh, T.P., 1986. Effect of pesticide on circulating thyroid hormone levels in the freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch), *Environmental research*, 39, 1, 136-142.
- Yılmaz, E., 2015. Balık Hematolojisi ve Yeme Eklenen Bazı Tıbbi Bitkilerin Balıkların Kan Parametrelerine Etkisi Üzerine Bir Derleme. *Science*, 36, 2, 37-50.
- Yildiz, H.Y. ve Ergonul, M.B., 2010. Is prophylactic formalin exposure a stress source for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*), *Ankara Univ. Vet. Fak. Deg.*, 57, 113-118.
- Yousif, A.S. ve Asma A.A., 2009. Effects of cadmium (Cd) and lead (Pb) on the structure and function of thyroid gland, *African Journal of Environmental Science and Technology*, 3, 3, 078-085.
- Yu, L., Chen, M., Liu, Y., Gui, W. ve Zhu, G., 2013. Thyroid endocrine disruption in zebrafish larvae following exposure to hexaconazole and tebuconazole, *Aquatic toxicology*, 138, 35-42.
- Yurekli, M., Esrefoglu, M., Ilker Doğru, M., Doğru, A., Gul, M. ve Whidden, M., 2009. Adrenomedullin reduces antioxidant defense system and enhances kidney tissue damage in cadmium and lead exposed rats, *Environmental toxicology*, 24, 3, 279-286.
- Zambrano, L., Martínez-Meyer, E., Menezes, N., ve Peterson, A.T., 2006. Invasive potential of common carp (*Cyprinus carpio*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in American freshwater systems, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 63, 9, 1903-1910.
- Zhang, X., Zhong, Y., Tian, H., Wang, W. ve Ru, S., 2015. Impairment of the cortisol stress response mediated by the hypothalamus–pituitary–interrenal (HPI) axis in zebrafish (*Danio rerio*) exposed to monocrotophos pesticide, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 176, 10-16.

Zhiteneva, L.D., Poltavceva, T.G. ve Rudnickaja, O.A., 1989. Atlas of normal and pathological cells in the blood of fish, Rostou-on Don, Rio de Janeiro, Brazil, 112.



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Nuh KORKMAZ
Doğum Tarihi ve Yeri : 1972 Gülşehir
E-posta adresi : korkmazhun@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Orta Doğu Teknik Üniversitesi 1995
Yüksek Lisans : Celal Bayar Üniversitesi 2003
Doktora : Aksaray Üniversitesi 2013

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

1995-2003	Öğretmen	Dündar Çiloğlu Anadolu Lisesi, Manisa
2003- 2003	Öğretmen	Keskin Lisesi, Keskin-Kırıkkale
2003-2008	Müdür Yrd.	Keskin Lisesi, Keskin-Kırıkkale
2008-2010	Öğretmen	Anadolu Öğretmen Lisesi, Nevşehir
2010-2014	Müdür	Şht. H. S. Çetinkaya And. Lis., Gülşehir-Nevşehir
2014-2015	Öğretmen	Mesleki ve Teknik And. Lis., Gülşehir-Nevşehir
2015	Öğretmen	Millî Eğitim Bakanlığı Fark Oluşturan Öğretmen- Nevşehir'i temsilen Yılın Öğretmeni
2015-	Müdür	Şht. H. S. Çetinkaya And. Lis., Gülşehir-Nevşehir

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Makale

1. Örün İ., Korkmaz N., (2016) The Effects Of Pesticide Neemazal On The Growth Hormone (GH) And Insulin-Like Growth Hormone (IGF-1) Of Carp Fish (*Cyprinus Carpio*, 1758 L.), *Industrial Technologies*, 3: 45-53.

Uluslararası Kongre ve Sempozyum Sunumları

1. Örün İ., Korkmaz N., The Effects Of Pesticide Neemazal On The Growth Hormone (GH) And Insulin-Like Growth Hormone (IGF-1) Of Carp Fish (*Cyprinus Carpio*, 1758 L.), International Conference “Education, Science, Economics and Technologies” Burgas-Bulgaria, 23-24 Haziran 2016. (SÖZLÜ)
2. Örün İ., Korkmaz N., (2016). The Effects Of Pesticide Neemazal On The Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) TSH And Thyroid Gland Activity, “Internatioal Symposium On Fisheries and Aquatic Sciences” Antalya- Turkey, 3-5 November 2016. (SÖZLÜ)
3. Korkmaz N., Örün İ., The Histopathological Effect Of The Pesticide Neemazal On Carp Fish (*Cyprinus carpio*, 1758 L.), “Internatioal Symposium On Fisheries and Aquatic Sciences” Antalya- Turkey, 3-5 November 2016. (SÖZLÜ)
4. Örün İ., Korkmaz N., (2017). Haematological Responesen Of Common Carps (*Cyprinus Carpio* L. 1758) After Exposure The Pesticide Neemazal. 1th International Conference On Advances In Science And Arts 2017. (SÖZLÜ)
5. Örün İ., Korkmaz N., (2017). The Effects of Pesticide Neemazal on Antioxidant System of Carps (*Cyprinus carpio* L. 1758). Ecology 2017 International Symposium. (SÖZLÜ)

6. Örün İ., Korkmaz N., (2017). The Effects Of Azadirachtin on Serum ACTH-Cortisol Levels Of Carp (*Cyprinus carpio* 1758 L.). 4th International Conference On Computational And Experimental Science And Engineering. (SÖZLÜ)
7. Örün İ., Korkmaz N., (2017). The Effects Of Pesticide Neemazal on IL-1 β , IL-6 and TNF- α Of Carp (*Cyprinus carpio* L. 1758). 4th International Conference On Computational And Experimental Science And Engineering. (SÖZLÜ)

