

T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANA BİLİM DALI



**CYPRODINİL, GLYPHOSATE İSOPROPİLAMİN TUZU VE
INDOXACARB ETKEN MADDELİ PESTİSİTLERİN DAR
PENÇELİ KEREVİT (*Pontastacus leptodactylus*) ÜZERİNDEKİ
TOKSİK ETKİLERİ**

YİĞİT TAŞTAN

DOKTORA TEZİ

DOÇ. DR. ADEM YAVUZ SÖNMEZ

MAYIS - 2024

KASTAMONU

TEZ ONAYI

Yiğit TAŞTAN tarafından hazırlanan “**Cyprodinil, Glyphosate Isopropilamin Tuzu ve Indoxacarb Etken Maddeli Pestisitlerin Dar Pençeli Kerevit (*Pontastacus leptodactylus*) Üzerindeki Toksik Etkileri**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı **20.05.2024** tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Su Ürünleri Yetiştiriciliği Ana Bilim Dalı Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Doç. Dr. Adem Yavuz SÖNMEZ Kastamonu Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Muhammed ATAMANALP Atatürk Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Süleyman AKHAN Akdeniz Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Soner BİLEN Kastamonu Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Mustafa HİTİT Kastamonu Üniversitesi	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Enstitü Müdürü Doç. Dr. Selçuk MEMİŞ

TAAHHÜTNAME

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu; ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını, bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini bildirir ve taahhüt ederim.

YİĞİT TAŞTAN

ÖZET

DOKTORA TEZİ

CYPRODINİL, GLYPHOSATE ISOPROPİLAMİN TUZU VE INDOXACARB ETKEN MADDELİ PESTİSİTLERİN DAR PENÇELİ KEREVİT (*Pontastacus leptodactylus*) ÜZERİNDEKİ TOKSİK ETKİLERİ

YİĞİT TAŞTAN

KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN:DOÇ. DR. ADEM YAVUZ SÖNMEZ

Bu tez çalışmasında cyprodinil, glyphosate isopropilamin tuzu ve indoxacarb etken maddeli ticari pestisit formülasyonlarının dar pençeli kerevitteki (*Pontastacus leptodactylus*) toksik etkileri araştırılmıştır. İlk etapta boy ve ağırlık ortalamaları sırasıyla $43,7\pm0,2$ g ve $11,0\pm0,1$ cm olan her iki cinsiyetten yetişkin 160 adet dar pençeli kerevit bireyi 96 saatlik akut toksisite testinde pestisitlerin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılmış ve ölümler kaydedilerek pestisitlerin bu tür için LC_{50} değerleri hesaplanmıştır. İkinci etapta ise ortalama ağırlık ve boyları sırasıyla $45,4\pm0,3$ g ve $12,1\pm0,1$ cm olan her iki cinsiyetten yetişkin 120 adet dar pençeli kerevit bireyi 3 tekerrürlü düzenekte 96 saatlik subletal akut toksisite testine (belirlenen LC_{50} değerlerinin %20'si kullanılarak) tabi tutulmuştur. Her iki deneyde de herhangi bir maddeye maruz bırakılmayan kontrol grubu kullanılmıştır. Subletal testin sonunda akvaryum başına 3, grup başına toplamda 9 kerevitten hemolenf ve hepatopankreas numuneleri alınmış ve bu numuneler hemolenf biyokimyasal parametrelerinin, antioksidan enzim aktivitelerinin, histopatolojik değişimlerin ve genotoksik etkinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Elde edilen verilere göre cyprodinil, glyphosate isopropilamin tuzu ve indoxacarb etken maddeli ticari pestisit formülasyonlarının LC_{50} değerleri sırasıyla 18,402; 59,715 ve 13,133 mg/L olarak bulunmuştur. Subletal toksikoloji testi sonuçlarına göre cyprodinil etken maddeli pestisit dar pençeli kerevitte oksidatif hasara, bağışıklık yanıtın harekete geçmesine, antioksidan sistemin baskılanmasına ve şiddetli hepatopankreas hasarına yol açtığı tespit edilmiştir. Glyphosate isopropilamin tuzu etken maddeli pestisite maruz bırakılan grupta hafif şiddette hepatopankreas hasarı belirlenirken çok şiddetli genotoksisite meydana geldiği müşahade edilmiştir. Son olarak indoxacarb etken maddeli pestisit ise oksidatif hasar ve hepatopankreasta ciddi histopatolojiye neden olduğu saptanmıştır. Elde edilen LC_{50} değerleri, bahsedilen pestisitlerin nicel olarak toksisitesinin dar pençeli kerevitte düşük olduğuna işaret etmektedir. Dolayısıyla bu denli yüksek konsantrasyonların su kaynaklarında bulunması ihtimali olmadığından bu pestisitlerin kullanımının doğal dar pençeli kerevit popülasyonları açısından riski düşüktür. Fakat yine de dar pençeli kerevitlerin bulunduğu sularda cyprodinil, glyphosate isopropilamin tuzu ve indoxacarb konsantrasyonlarının izlenmesi önerilir. Bununla birlikte glyphosate isopropilamin tuzu grubunda tespit edilen şiddetli genotoksisite dikkate değer bir bulgudur. Tüm canlılarda DNA aynı yapıda olduğundan, glyphosate isopropilamin tuzu maruziyetinin bu pestisitle temasa geçen insanlar ve diğer canlılar açısından da potansiyel tehlike arz edebileceği

öngörülmektedir. Bununla birlikte bu araştırmada elde edilen sonuçlar bu pestisitlerin dar pençeli kerevitteki akut toksik etkilerini ortaya koymuştur. Bunların toksikoloji alanındaki bilgi boşluğunun doldurulması maksadıyla gelecekteki çalışmalarda kronik toksik etkilerinin de belirlenmesi gerekmektedir.

ANAHTAR KELİMELEER: Hedef dışı organizma, pestisit, toksikoloji, *Pontastacus leptodactylus*, dar pençeli kerevit.

Mayıs 2024, 81 Sayfa



ABSTRACT

PH.D THESIS

TOXIC EFFECTS OF PESTICIDES WITH ACTIVE INGREDIENTS CYPRODINIL, GLYPHOSATE ISOPROPYLAMINE SALT AND INDOXACARB ON NARROW-CLAWED CRAYFISH (*Pontastacus leptodactylus*)

YİĞİT TAŞTAN

KASTAMONU UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF AQUACULTURE

SUPERVISOR:ASSOC. PROF. DR. ADEM YAVUZ SÖNMEZ

In this thesis study, the toxic effects of commercial pesticide formulations with active ingredients cyprodinil, glyphosate isopropylamine salt and indoxacarb on narrow-clawed crayfish (*Pontastacus leptodactylus*) were investigated. In the first stage, 160 adult narrow-clawed crayfish individuals of both sexes, whose average height and weight were 43.7 ± 0.2 g and 11.0 ± 0.1 cm, respectively, were exposed to different concentrations of pesticides in the 96-hour acute toxicity test, and the LC_{50} values of the pesticides for this species were calculated by recording the mortalities. In the second stage, 120 adult narrow-clawed crayfish individuals of both sexes, with average weight and length of 45.4 ± 0.3 g and 12.1 ± 0.1 cm, respectively, were subjected to a 96-hour sublethal acute toxicity test (by using 20% of the determined LC_{50} values) in a 3-replication setup. A control group that was not exposed to any substance was used in both experiments. At the end of the sublethal test, hemolymph and hepatopancreas samples were taken from 3 crayfish per aquarium, a total of 9 crayfish per group, and these samples were used to determine hemolymph biochemical parameters, antioxidant enzyme activities, histopathological changes and genotoxic effect. According to the data obtained, the LC_{50} values of commercial pesticide formulations with active ingredients cyprodinil, glyphosate isopropylamine salt and indoxacarb were found to be 18.402, 59.715 and 13.133 mg/L, respectively. According to the results of the sublethal toxicology test, it was determined that the pesticide with active ingredient cyprodinil caused oxidative damage, activation of the immune response, suppression of the antioxidant system and severe hepatopancreas damage in narrow-clawed crayfish. While mild hepatopancreas damage was detected in the group exposed to pesticide with active ingredient glyphosate isopropylamine salt, very severe genotoxicity was observed. Finally, it was determined that the pesticide with active ingredient indoxacarb caused oxidative damage and serious histopathology in the hepatopancreas. Obtained LC_{50} values indicate that the quantitative toxicity of the mentioned pesticides is low in narrow-clawed crayfish. Therefore, the use of these pesticides poses a low risk to natural narrow-clawed crayfish populations as such high concentrations are unlikely to be found in water sources. However, it is still recommended to monitor cyprodinil, glyphosate isopropylamine salt and indoxacarb concentrations in waters where narrow-clawed crayfish inhabits. Moreover, the severe genotoxicity detected in the glyphosate isopropylamine salt group is a remarkable finding. Since DNA has the same structure in all living beings, it is predicted that glyphosate isopropylamine salt exposure may pose a potential danger to humans

and other living beings that come into contact with this pesticide. Furthermore, the results obtained in this study revealed the acute toxic effects of these pesticides on narrow-clawed crayfish. Their chronic toxic effects also need to be determined in future studies in order to fill the gap in the toxicology field.

KEYWORDS: Non-target organism, pesticide, toxicology, *Pontastacus leptodactylus*, narrow-clawed crayfish.

May 2024, 81 Pages



TEŞEKKÜR

Başta gerek akademik gerek sosyal hayatımda bana örnek teşkil eden ve hiçbir zaman bilgisini, tecrübesini, maddi manevi desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Adem Yavuz SÖNMEZ olmak üzere tez çalışmamda önemli katkıları bulunan Sayın Doç. Dr. Ertuğrul TERZİ'ye, Sayın Doç. Dr. Selçuk BERBER'e, Sayın Doç. Dr. Mustafa HİTİT'e, Sayın Doç. Dr. Soner BİLEN'e, Sayın Doç. Dr. İsmail CAN'a, Sayın Doç. Dr. Funda TERZİ'ye, Sayın Doç. Dr. Oytun Emre SAKICI'ya, Sayın Arş. Gör. Dr. Nihan AKINCI KENANOĞLU'na, Sayın Arş. Gör. Dr. Osman Nezih KENANOĞLU'na, Sayın Arş. Gör. İlayda YILDIRIM'a ve tez savunma sınavımda değerli katkılarını aktaran jüri üyeleri Sayın Prof. Dr. Muhammed ATAMANALP ve Sayın Prof. Dr. Süleyman AKHAN'a en içten saygılarımla birlikte teşekkürlerimi sunarım. Bununla birlikte hayatım boyunca hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen ve beni yetiştirmek için elinden gelenin fazlasını yapan çok kıymetli aile üyelerim babam Özcan TAŞTAN'a, annem Hatice TAŞTAN'a, abim Ercüment Rıza Yağız TAŞTAN'a, kardeşim Gülüzar Yaren TAŞTAN'a ve yanımda olmasından duyduğum memnuniyeti kelimelerle dahi ifade edemeyeceğim çok sevgili eşim Büşra TAŞTAN'a şükranlarımı sunarım. Son olarak çalışmamın gerçekleştirilmesindeki maddi desteği KÜBAP-01/2022-19 numaralı proje ile sağlayan Kastamonu Üniversitesi, Bilimsel Araştırmaları Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

YİĞİT TAŞTAN

Kastamonu, 2024

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ ONAYI	ii
TAAHHÜTNAME	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Elma Yetiştiriciliğinde Kullanılan ve Bu Tez Çalışmasına Konu Olan Pestisitler	4
1.1.1 Cyprodinil	4
1.1.2 Glyphosate Isopropilamin Tuzu.....	5
1.1.3 Indoxacarb	5
2. KAYNAK ÖZETLERİ	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM	14
3.1 Materyal	14
3.2 Yöntem.....	15
3.2.1 Kerevitlerin Barındırılması	15
3.2.2 LC ₅₀ Değerlerinin Belirlenmesi	17
3.2.3 Subletal Toksikoloji Deneyi	19
3.2.4 Örnek Toplama	20
3.2.5 Biyokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi	21
3.2.6 Lipit Peroksidasyonu ve Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi	22
3.2.7 Histolojik İnceleme	22
3.2.8 Genotoksik Etkinin Belirlenmesi	22
3.2.9 İstatistik Analiz	24
4. BULGULAR	25
4.1 LC ₅₀ Değerleri.....	27
4.2 Subletal Toksikoloji Bulguları	27
4.2.1 Biyokimyasal Parametreler	27
4.2.2 Lipit Peroksidasyonu ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri	37
4.2.3 Histolojik Değişimler.....	41
4.2.3.1 Kontrol grubu bulguları.....	42
4.2.3.2 Cyprodinil grubu bulguları.....	43
4.2.3.3 Glyphosate isopropilamin tuzu grubu bulguları.....	44
4.2.3.4 Indoxacarb grubu bulguları	45
4.2.4 Genotoksik Etki	46
5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	62
KAYNAKLAR	64
EKLER.....	76

EK A. Biyokimyasal Parametrelerin ve Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Ticari Kitler.....	77
EK B. DNA Hasarının Tayininde Kullanılan Makro Kodu	78
ÖZGEÇMİŞ.....	79



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 3.1 Çalışmada kullanılmak üzere avlanan ve laboratuvara getirilen kerevit bireyleri	15
Şekil 3.2 Çalışmada kullanılan akvaryum düzeni ve kerevitler.....	17
Şekil 3.3 Birinci aşamaya (LC ₅₀ düzeylerinin belirlenmesi) ilişkin deney düzeneği	18
Şekil 3.4 İkinci aşamaya (subletal toksikoloji testi) ilişkin deney düzeneği	19
Şekil 3.5 Akvaryumlara eklenmek üzere hazırlanan pestisit karışımları.....	20
Şekil 3.6 Kerevitlerden hemolenf alma işlemi.....	20
Şekil 3.7 Hepatopankreas homojenizasyon işlemi.....	21
Şekil 3.8 Tek hücre jel elektroforezi analizinde hazırlanan slaytların görüntülediği mikroskop	24
Şekil 4.1 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama alanin aminotransferaz (ALT) değerlerine ilişkin grafik.....	28
Şekil 4.2 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama aspartat aminotransferaz (AST) değerlerine ilişkin grafik	29
Şekil 4.3 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama alkalın fosfataz (ALP) değerlerine ilişkin grafik	30
Şekil 4.4 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama laktat dehidrogenaz (LDH) değerlerine ilişkin grafik	31
Şekil 4.5 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama glikoz değerlerine ilişkin grafik	32
Şekil 4.6 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama trigliserit değerlerine ilişkin grafik	33
Şekil 4.7 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama kolesterol değerlerine ilişkin grafik	34
Şekil 4.8 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama toplam protein değerlerine ilişkin grafik	35
Şekil 4.9 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama albümin değerlerine ilişkin grafik	36
Şekil 4.10 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama globulin değerlerine ilişkin grafik	37
Şekil 4.11 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama MDA değerlerine ilişkin grafik	38

Şekil 4.12 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama süperoksit dismutaz (SOD) değerlerine ilişkin grafik	39
Şekil 4.13 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama katalaz (KAT) değerlerine ilişkin grafik	40
Şekil 4.14 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama glutatyon peroksidaz (GPx) değerlerine ilişkin grafik	41
Şekil 4.15 Subletal akut toksikoloji testinden sonra kontrol grubu dar pençeli kerevitlerinin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) hepatopankreas doku kesitlerinin normal histolojik görünümü	43
Şekil 4.16 Subletal akut toksikoloji testinden sonra cyprodinil grubu dar pençeli kerevitlerinin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) hepatopankreas doku kesitlerinin histolojik görünümü	44
Şekil 4.17 Subletal akut toksikoloji testinden sonra glyphosate isopropilamin tuzu grubu dar pençeli kerevitlerinin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) hepatopankreas doku kesitlerinin histolojik görünümü	45
Şekil 4.18 Subletal akut toksikoloji testinden sonra indoxacarb grubu dar pençeli kerevitlerinin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) hepatopankreas doku kesitlerinin histolojik görünümü	46
Şekil 4.19 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) DNA göçünü temsil eden fotoğraflar	48

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1 Türkiye kerevit üretim miktarları.....	7
Tablo 1.2 Isparta kerevit üretim miktarları.....	7
Tablo 4.1 LC ₅₀ konsantrasyonlarının belirlenmesinde kullanılan 160 adet dar pençeli kerevitin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama boy ve ağırlık verileri.....	25
Tablo 4.2 Subletal toksikoloji deneyinde kullanılan 120 adet dar pençeli kerevitin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama boy ve ağırlık verileri	26
Tablo 4.3 LC ₅₀ deneyindeki suyun sıcaklık, pH ve çözünmüş oksijen değerleri.....	26
Tablo 4.4 Subletal toksikoloji deneyindeki suyun sıcaklık, pH ve çözünmüş oksijen değerleri	27
Tablo 4.5 LC ₅₀ denemesinde kullanılan pestisit konsantrasyonları ve hesaplanan LC ₅₀ değerleri	27
Tablo 4.6 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama alanin aminotransferaz (ALT) değerleri	28
Tablo 4.7 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama aspartat aminotransferaz (AST) değerleri	29
Tablo 4.8 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama alkalın fosfataz (ALP) değerleri.....	30
Tablo 4.9 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama laktat dehidrogenaz (LDH) değerleri.....	31
Tablo 4.10 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama glikoz değerleri	32
Tablo 4.11 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama trigliserit değerleri	33
Tablo 4.12 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama kolesterol değerleri	34
Tablo 4.13 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama toplam protein değerleri.....	35
Tablo 4.14 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama albümin değerleri.....	36
Tablo 4.15 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama globulin değerleri.....	37
Tablo 4.16 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama malondialdehit (MDA) değerleri.....	38
Tablo 4.17 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama süperoksit dismutaz (SOD) değerleri.....	39

Tablo 4.18	Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama katalaz (KAT) değerleri.....	40
Tablo 4.19	Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) ortalama glutatyon peroksidaz (GPx) değerleri.....	41
Tablo 4.20	Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) hepatopankreas dokularındaki histopatolojik değişimlerin yarı nicel değerlendirmesi	42
Tablo 4.21	Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (<i>Pontastacus leptodactylus</i>) DNA hasarı düzeyleri	47



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

\$	: Dolar
%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
Ca	: Kalsiyum
cm	: Santimetre
dL	: Desilitre
g	: Gram
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
km ²	: Kilometre kare
L	: Litre
m	: Metre
M	: Molar
mAh	: Miliamper
Mg	: Magnezyum
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
n	: Örnek sayısı
nmol	: Nanomol
O ₂ ⁻	: Süperoksit radikali
p	: Olasılık
pH	: Hidrojen potansiyeli
RCF	: Nispi santrifüj kuvveti
U	: Bir enzim birimi
V	: Volt

Kısaltmalar

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ALP	: Alkalın fosfataz
ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
Bm	: Bazal membran
BPY	: Bütünleşik Pestisit Yönetimi
C	: Cyprodinil
DNA	: Deoksiribonükleik asit
G	: Glyphosate isopropilamin tuzu
GPx	: Glutasyon peroksidaz
Hi	: Hemositik infiltrasyon
I	: Indoxacarb
K	: Kontrol

KAT	: Katalaz
LC₅₀	: Öldürücü konsantrasyon 50
LDH	: Laktat dehidrogenaz
LMP	: Düşük erime ısı
Lu	: Lümen
MDA	: Malondialdehit
NAD⁺	: Nikotinamid adenin dinükleotit
NADH	: Nikotinamid adenin dinükleotit + hidrojen
NMP	: Normal erime ısı
OECD	: Ekonomik Kalkınma ve İş Birliği Örgütü
PBS	: Fosfat tamponlu salin
PVC	: Polivinil klorür
SOD	: Süperoksit dismutaz
T.C.	: Türkiye Cumhuriyeti
TBARS	: Tiyoobarbitürik asit-reaktif maddeler
Tu	: Tübül
US EPA	: Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı
Va	: Vakuol

1. GİRİŞ

Hızla artan dünya nüfusunun besin ihtiyacının karşılanmasında sürdürülebilir gıda arzı çok büyük önem taşımaktadır. Gıda arzının sürekliliği ancak gıda üretim sektörlerinin devamlılığı ile mümkündür. Bu bağlamda tarımsal üretim sektörü şüphesiz ki dünya gıda ihtiyacının karşılanmasında önde gelen faaliyet alanlarından birisidir. Ancak ne var ki tarımsal üretimi sekteye uğratan birçok unsur mevcuttur. Bunların başlıcaları; toprak (örn. toprak bozunumu ve erozyon), su (örn. su kıtlığı ve etkin olmayan sulama sistemleri), iklim (örn. küresel ısınma nedeniyle sıcaklık ve yağış rejimlerindeki değişiklikler) ve zararlılar olarak sıralanabilir (Ruttan, 2005). Bu kısıtlayıcı unsurlar sürdürülebilirliğin önünde bir engel oluştururken, üretim safhasında sınırlı kaynaklardan daha fazla yararlanma ve birim alandan maksimum fayda elde etme adına konveksiyonel tarım uygulamaları ön plana çıkmaktadır. Bu sistem birçok tartışmalı uygulama veya metodu beraberinde getirirse de maksimum fayda elde etme çabası kontrollü şartların önüne geçememektedir.

Hiç şüphesiz ki tarımda üretim sürecini etkileyen birçok dış faktör bulunmakla birlikte konveksiyonel tarımın en önemli problemlerinden birisi bitki zararlılarıdır. Günümüzde tarımsal üretimde zararlılarla mücadelede kullanılan etkin yöntemler mevcuttur. Bu yöntemlerin başlıcası ve en büyük paya sahip olanı pestisitlerdir. US EPA'ya göre pestisit; bir zararlıyı önleme, yok etme, uzaklaştırma veya uysallaştırma hedefiyle veya bitki düzenleyici, yaprak dökücü veya kurutucu olarak kullanılan herhangi bir madde veya maddeler karışımı olarak tanımlanmaktadır (URL-1, 2024). Bu tanımdan da anlaşılacağı üzere pestisitler birincil olarak bir organizmaya zarar vermek üzere tasarlanmış bileşiklerdir. Bu kullanım amacının doğurduğu istenmeyen en önemli yan etki ise pestisitlerin hedeflenen türden başka canlılara da zarar vermesidir. Pestisitlerin hedef dışı organizma olarak adlandırılan bu canlılara zararlı olmasının birkaç temel nedeni vardır. Bunlardan başlıcaları aşağıdaki şekilde özetlenebilir.

Pestisitlerin Geniş Spektrumlu Etkileri: Pek çok pestisit, çeşitli böceklerde ve diğer canlılarda ortak olan biyolojik süreçleri hedef alır. Örneğin bazı böcek ilaçları türe özel

olmayıp, tüm böceklerin sinir sistemine müdahale ederek etki göstermektedir. Bu, zararlıları öldürmede etkili olsa da aynı zamanda mahsullerin ve çiçeklerin tozlaşmasına fayda sağlayan civardaki coccinellid ve bombus gibi faydalı böceklerle de zarar verebilmektedir (Motta ve Moran, 2023; Stanley ve Preetha, 2016).

Ekosistem Dengesinin Bozulması: Pestisitlerin faydalı organizmalara verdiği zararın doğurduğu sonuçlar yalnızca mahsullerin veya çiçeklerin tozlaşmasına ket vurmakla sınırlı değildir. Pestisitler besin zincirinde önemli bir rol üstlenen bir organizmayı yok ederek bölgedeki ekolojik dengeyi bozabilmektedir. Aynı zamanda bir türün avcısına zarar verip üzerindeki av baskısını hafifleterek veya kaldırarak popülasyon dinamiğini etkileyebilmektedir. Hatta bu durum, üzerindeki av baskısı kalkan zararlı bir organizmanın daha da çoğalarak mahsullere daha fazla zarar vermesiyle sonuçlanabilmektedir (Douglas vd., 2015; Martinou vd., 2014).

Çevresel Kalıcılık: Bazı pestisitler çevrede kolayca bozunmamaktadır. Bu durum, toprakta ve suda kalabilecekleri, bitkiler tarafından alınabilecekleri veya yanlışlıkla hayvanlar tarafından tüketilebilecekleri anlamına gelmektedir. Bunun sonucunda da hayvan dokularında birikerek biyobirikime (biyoakümülyasyon) neden olabilmektedir. Her ne kadar bu pestisit konsantrasyonları çoğu zaman iz miktarlarda olsa da besin zincirinde yukarı doğru gidildikçe bilhassa predatör organizmalarda artan konsantrasyonlarda birikerek biyoartış (biyomagnifikasyon) yoluyla en nihayetinde toksik etki meydana getirebilecek seviyelere ulaşabilmektedir (Iyaniwura, 1991; Narayanan vd., 2022).

Taşınabilirlik: Pestisitler çoğu zaman kullanımı amaçlanan alanla sınırlı kalmamakta, civar bölgelere taşınmaktadır. Bu bağlamda su kaynakları da pestisit kontaminasyonuna maruz kalabilmektedir. Pestisitlerin su kaynaklarına taşınması, suların ve kıyıların ilaçlanması ve endüstriyel atıkların su kaynaklarına dökülmesi gibi yollarla (Sönmez vd., 2021) doğrudan gerçekleşebileceği gibi ilaçlanan tarım arazisi atıklarının yağmur suları ve drenaj ile yıkanması, kanalizasyon, rüzgar ve topraktan sızma gibi yollarla (J. Gao vd., 2012; Sönmez vd., 2021) dolaylı olarak da gerçekleşebilir. Her ne kadar su kaynakları kirleticiler bakımından her zaman nihai alıcı ortam olmasa da dünyamızın yaklaşık %71'inin sularla kaplı olduğu

düşünüldüğünde ve su kaynaklarının hareketliliği, çözücü özellikleri ve doğal döngülerdeki yeri göz önüne alındığında birçok farklı kirletici için su kaynakları önemli bir taşıyıcı ortam rolü üstlenmekte, bazı kirleticiler için ise nihai durulma yeri görevi görmektedir (McCarthy ve Zachara, 1989; Schwarzenbach vd., 2003). Buradan hareketle su kaynaklarına taşınan pestisitlerin sucul organizmalar açısından risk teşkil ettiğini ifade etmek mümkündür.

Pestisitlerin tüm bu zararlı etkileri ve riskleri göz önüne alındığında ikame yöntemlerin uygulamaya geçirilmesi gerektiği sonucunu çıkarmak en makul yol gibi görünse de bu yöntemlerin uygulanabilirliği halen tartışma konusudur. Örneğin pestisit kullanımına alternatif olarak genetiği değiştirilmiş, zararlılara dirençli mahsullerin üretilmesi fikri uzun zamandır süregelen bir yaklaşımdır. Her ne kadar bu yaklaşım günümüzde bazı bölgelerde kullanılıyor ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) gibi bazı kurumlarca piyasadaki mevcut genetiği değiştirilmiş gıdaların kullanımı güvenli olarak lanse ediliyor olsa da (URL-2, 2014) bunların gerek insan sağlığı gerekse mahsullerin sürdürülebilirliği açısından uzun vadeli etkilerinin bilinmiyor olması ve hatta etik ve dini inançlar bakımından endişelerin var olması bu yaklaşımın kullanımını kısıtlamaktadır (National Academies of Sciences, 2016). Bir başka alternatif yaklaşım olan “bütünleşik pestisit yönetimi” (BPY) ise çok aşamalı bir yaklaşımdır. Detaylarına burada çok girilmeyecek olsa da bu yöntem önleme (mahsul rotasyonu, sanitasyon, dirençli varyetelerin ekilmesi, faydalı organizmalara habitat oluşturulması), izleme (mahsullerde zararlılara dair emare arama, zararlı hareketlerini takip etmek için tuzaklar kurma), hedeflenmiş kontrol (biyolojik kontrol, mekanik kontrol, biyopestisit kullanımı) ve karar verme gibi basamaklardan oluşmaktadır (URL-3, 2024; URL-4, 2023). Kısacası, bu yaklaşım çok karmaşık ve derin bilgi gerektiren süreçleri içermektedir. Bu, yeterli yönetsel süreçleri ve organizasyonu olan büyük firmalarca uygulanabilecek olsa da küçük çiftçiler tarafından kullanılması pek olası değildir. Ancak dünya gıda üretiminin %70’inden fazlasının küçük ölçekli çiftçiler tarafından yapıldığı tahmin edilmektedir (Wolfenson, 2013). Bu durum da bu metodun kullanımını sınırlamaktadır. Buradan hareketle pestisit kullanımının yakın zamanda alternatif bir yöntemle değiştirilmesi pek mümkün gözükmemektedir. Nitekim gün geçtikçe artan ve 2021 yılında küresel ölçekte 3,54 milyon ton olarak gerçekleşen pestisit tüketim miktarı da (URL-5, 2024) bu savı destekler niteliktedir. Ülkemizde de

yıl bazında çeşitlilik olsa da pestisit kullanımı uzun vadede artış eğilimindedir. Örneğin 2006 yılında 45.376 ton olarak gerçekleşen pestisit kullanımı 2021 ve 2022 yıllarında sırasıyla 52.965 ve 55.374 ton olarak kayıtlara geçmiştir (URL-6, 2024).

Elbette ülkemizde tarım sektörü; istihdam edilen nüfus sayısı, ekonomik getiri ve gıda arzı bakımından çok önemli bir yere sahiptir. Aynı zamanda küresel ölçekte de Türkiye'nin kayda değer bir konumu vardır. Örneğin 2020 verilerine göre Türkiye global tarımsal üretim değerine 86 milyon \$ dolar katkı sağlamış ve %2'lik payla tüm ülkeler arasında 7. sırada yer almıştır (URL-7, 2023). Ülkemizde birçok farklı mahsul yetiştirilmekle birlikte en çok üretimi yapılan meyve ise elmadır. Elma üretimi tüm meyve üretiminin %18'ini teşkil etmekle birlikte 2022 yılında 4,82 milyon ton olarak gerçekleşmiştir (URL-7, 2023). Bununla birlikte elma üretim miktarlarında en önde gelen ilimiz %26'lık payla Isparta'dır. Isparta'da elma yetiştiriciliği bilhassa Eğirdir Gölü Havzası'nda yoğun olarak yapılmaktadır. Isparta'da elma yetiştiriciliğinde zararlılarla mücadelede kullanılan çeşitli pestisitler olmasına karşın bu çalışmanın kapsamı gereği bunlardan bazılarını aşağıda değinilmiştir.

1.1 Elma Yetiştiriciliğinde Kullanılan ve Bu Tez Çalışmasına Konu Olan Pestisitler

1.1.1 Cyprodinil

Cyprodinil ($C_{14}H_{15}N_3$) zirai üretimde çeşitli fungal hastalıkların kontrolünde kullanılan geniş spektrumlu bir fungusittir. Anilinopirimidin kimyasal sınıfına dahil olan bu pestisit biyolojik etki mekanizması; metiyonin sentezinin baskılanması ve hidrolitik enzimlerin salgılanmasına dayanmaktadır (Waechter vd., 2010). Etken maddesi cyprodinil olan çeşitli ticari formülasyonlar mevcuttur. Bu formülasyonlar ülkemizde, bunlarla sınırlı olmamakla birlikte, bağlarda kurşuni küf (*Botrytis cinerea*), elmada elma karalekesi (*Venturia inaequalis*) ve kayısıda çiçek monilyası (*Monilinia laxa* = *Sclerotinia laxa*) gibi hastalıklarla mücadelede kullanılmaktadır (URL-8, 2024). Cyprodinil içeren ticari formülasyonlara ülkemizde ilk ruhsat 1997 yılında verilmiş ve o zamandan beri kullanımı süregelmektedir (URL-9, 2024). Fakat birçok pestisitte olduğu gibi cyprodinil kullanımında da potansiyel endişeler mevcuttur. Her ne kadar

yapılan çalışmalara göre EPA (URL-10, 1998) tarafından kuşlara, küçük memelilere, arılar ve solucanlara neredeyse toksik olmadığı sonucuna varılsa da balıklara orta düzeyde, tatlı su ve tuzlu su omurgasızlarına ise yüksek derecede toksik olduğu bildirilmiştir.

1.1.2 Glyphosate Isopropilamin Tuzu

Glyphosate IPA veya IPA tuzu olarak da bilinen glyphosate isopropilamin tuzu ($C_6H_{17}N_2O_5P$), geniş spektrumlu herbisit olan glyphosate bileşeninin yaygın olarak kullanılan bir formülasyonudur (URL-11, 2024). Glyphosate isopropilamin tuzu, tarımsal üretimde çoğunlukla çalimsı ve odunsu bitkiler ile yabancı otlarla mücadelede kullanılmaktadır. Örneğin bağ, fındık, turunçgiller ve meyve bahçelerinde yabancı havuç (*Daucus carota*) ve sirken (*Chenopodium album*) gibi tek yıllık ve tarla sarmaşığı (*Convolvulus arvensis*) ve büyük ısırgan otu (*Urtica dioica*) gibi çok yıllık otlara karşı etkili bir pestisittir (URL-12, 2024). Dünya genelinde de çok yaygın kullanıma sahip olan bu pestisit Türkiye'deki ilk kullanım ruhsatı 1989 yılında verilmiştir (URL-13, 2024). Bununla birlikte glyphosate içerikli ticari formülasyonların toksisitesi ile ilgili literatürde çelişkili veriler mevcuttur. Örneğin EPA (URL-14, 1993) glyphosate'nin düşük akut toksisiteye sahip olduğunu, insanlar için risk teşkil etmediğini belirtse de Alvarez-Moya vd. (2014) glyphosate isopropilamin tuzunun Nil tilapyasında (*Oreochromis niloticus*) ve insan lenfosit hücrelerinde genotoksik etki gösterebileceğini ortaya koymuştur.

1.1.3 Indoxacarb

Oksadiazin kimyasal sınıfına ait bir insektisit olan indoxacarb ($C_{22}H_{17}ClF_3N_3O_7$), tarımsal üretimde böcekleri öldürmekte kullanılmaktadır (URL-15, 2000). Kullanımı tavsiye edilen bazı zararlılar bağda salkım güvesi (*Lobesia botrana*), domateste yeşilkurt (*Helicoverpa armigera*) ve elmada elma içkurdudur (*Cydia pomonella*) (URL-16, 2024). Indoxacarb, böceklerin sodyum kanallarını bloke ederek sinir sistemine etki eder, bu süreç nihayetinde felç ve ölümle sonuçlanır (Lapied vd., 2001). Ülkemizde indoxacarb etken maddeli ticari pestisit formülasyonlarının kullanımı 1999 yılından beri süregelmektedir (URL-17, 2024). Ancak indoxacarbin EPA (URL-15,

2000) tarafından memelilere, kuşlara, balıklara ve sucul omurgasızlara toksik olduğu belirtilmiştir. Bu bağlamda çevresel açıdan sakıncalı bir pestisit ve kullanırken bilhassa su kaynaklarına karışmaması için azami dikkat gösterilmelidir.

Tüm bu bilgilerden anlaşılacağı üzere Eğirdir Gölü Havzası'nda yürütülen elma yetiştiriciliği faaliyetlerinde kullanılan pestisitlerin doğrudan veya dolaylı olarak taşınarak Eğirdir Gölü'ne karışma ihtimali ve burada yaşayan sucul organizmalara karşı potansiyel riskleri mevcuttur. Nitekim WWF (2013) tarafından yayımlanan Eğirdir Gölü'nde Kirlilik Durumu ve Kirlilik Kaynakları Modelleme Çalışması Raporu'nda gölün havzadaki elma yetiştiriciliği faaliyetlerinden kaynaklanan pestisit kirliliğinin baskısı altında olduğu bildirilmiştir. Eğirdir Gölü, elma üretiminin yanı sıra su ürünleri açısından da önemli bir su kaynağıdır. Bu gölde 1500'lü yıllardan beri su ürünleri avcılığı yapıldığına dair bulgular mevcuttur (Arıkan, 1988; Hobanoğlu, 2001 akt. Zaman ve Çetin, 2006). Bununla birlikte ticari avcılık 1955 yılında sudak balığının (*Sander lucioperca*) göle aşılmasıyla başlamıştır (Zaman ve Çetin, 2006). Akabinde 1960'lı yılların başında dar pençeli kerevit (*Pontastacus leptodactylus*, sinonim: *Astacus leptodactylus*) avcılığı başlamış ve özellikle ülkemizde tüketilmediği için Avrupa'ya ihracatı nedeniyle önemli bir döviz getirisi sağlamış ve bunun sonucu olarak da kerevit avcılığına yönelen balıkçı sayısı artış göstermiştir (Zaman ve Çetin, 2006). Buna binaen kerevit üretim miktarları artmaya devam etmiş, 1984 yılında Türkiye kerevit üretimi 7.937 tona ulaşmış ve bu rakam avcılık yoluyla üretilen dünya tatlı su kabuklu üretiminin yaklaşık %6'sını teşkil etmiştir (FAO, 2021). Fakat aynı yıl bulaştığı popülasyonlarda %100 mortaliteye neden olabilen kerevit vebası hastalığı ülkemiz kerevit popülasyonlarında görülmeye başlanmış ve bunun sonucunda kerevit üretimi neredeyse 8.000 tona yaklaşmışken bir sonraki yıl, yani 1985 yılında birkaç yüz tona kadar gerilemiştir (Baran ve Soylu, 1989; Rahe ve Soylu, 1989). Hastalık nedeniyle kerevit avcılığı 1986-1999 yıllarında yasaklanmıştır (URL-18, 2009). Günümüzde kerevit avcılığı faaliyetleri sürdürülmekle birlikte eski üretim miktarlarına henüz ulaşamamıştır. Bununla birlikte son yıllarda artış gösteren kerevit üretimi, en azından yeniden bu potansiyele ulaşma imkanı olabileceğine işaret etmektedir (Tablo 1.1).

Tablo 1.1 Türkiye kerevit üretim miktarları (TÜİK, 2024)

Yıllar	Üretim Miktarı (ton)
2018	524
2019	696
2020	1.233
2021	1.011
2022	662

Kerevit avcılığının tavan yaptığı yıllarda üretimin çok büyük bir kısmı Eğirdir Gölü'nden sağlanmıştır. Örneğin 1977 yılında toplam 3.000 ton olan Türkiye kerevit üretiminin 2.852 tonu Eğirdir Gölü'nden gerçekleştirilmiştir (Zaman ve Çetin, 2006). Benzer şekilde günümüzde de Eğirdir Gölü, üretim miktarları bakımından kerevit avcılığında önde gelmektedir (Tablo 1.2).

Tablo 1.2 Isparta kerevit üretim miktarları (TÜİK, 2024)

Yıllar	Üretim Miktarı (ton)
2018	217
2019	401
2020	891
2021	658
2022	454

Kerevitler, yalnızca ekonomik olarak değil ekolojik olarak da büyük önem teşkil eden bir canlı grubudur. Tatlı su ekosistemlerinde hem avcı hem de av olarak davranarak besin zincirinde mühim bir rol oynarlar. Omnivor olan kerevitler, çürümekte olan bitki/hayvan atıkları, algler, böcek, solucan ve salyangoz gibi küçük omurgasızlar, balık yumurtası ve larvaları da dahil olmak üzere çok çeşitli organik maddelerle beslenirler. Sucul ortamdaki detritusu (çürüyen organik madde) tüketerek besin döngüsüne katkıda bulunurlar. Küçük omurgasızları yemeleri, popülasyonların kontrolüne ve dengeli bir ekosistem sağlanmasına yardımcı olur. Kerevitler; bazı balıklar (levrek, yayın gibi), amfibiler (kurbağa gibi), kuşlar (balıkçıl, ördek gibi) ve memeliler (su samuru, misk faresi gibi) için de bir besin kaynağıdır ve bu canlıların sağlıklı diyetlerinde önemli bir rol oynarlar. Kerevitler kendilerini sedimente gömmeyi

sevdikleri için bunu yaparken sucul ortamlarda su akışını iyileştirerek oksijenlenmeyi arttıran kanallar oluştururlar. Bu kendilerini gömme hareketi aynı zamanda organik maddenin yıkılmasına ve besin maddelerinin salınmasına neden olur. Bunlara ek olarak kerevitler çoğunlukla kirliliğe duyarlı ve yeterli oksijene sahip temiz suları tercih ederler. Bu özellikleri ile biyobelirteç görevi görebilirler (Reynolds vd., 2013; URL-19, 2021). Bu bilgilerden de anlaşılacağı üzere kerevitlerin bu geniş çeşitli ekolojik katkıları sucul ortamların sağlığı, işlevselliği ve sürdürülebilirliği için büyük önem arz etmektedir. Bu bağlamda doğal kerevit popülasyonlarının korunması, iyileştirilmesi ve bunlara etki edebilecek risklerin belirlenmesi üzerine düşülmesi gereken konulardır.

Yukarıda bahsedilen tüm bilgiler ışığında Eğirdir Gölü'nde yaşayan kerevit popülasyonlarının elma yetiştiriciliğinde kullanılan ticari pestisit formülasyonlarına maruz kalabileceği anlaşılmaktadır. Bu bağlamda bu pestisitlerin kerevitler üzerindeki etkilerinin belirlenmesi, kerevit popülasyonlarının ve avcılığının sürdürülebilirliği açısından önem teşkil etmektedir. Buradan hareketle bu tez çalışmasında cyprodinil, glyphosate isopropilamin tuzu ve indoxacarb etken maddeli ticari pestisit formülasyonlarının dar pençeli kerevitteki (*P. leptodactylus*) akut toksik etkilerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaca ulaşmak için bir grup dar pençeli kerevit 96 saatlik bir akut toksisite testine tabi tutulmuş ve ilgili pestisitlerin LC₅₀ değerleri belirlenmiştir. Akabinde ikinci bir akut toksisite testinde aynı türün bir başka grubu belirlenen LC₅₀ konsantrasyonlarının %20'sine (subletal konsantrasyon) yine 96 saat süreyle maruz bırakılmış ve kerevitlerin 96 saatin sonunda biyokimyasal hemolenf parametreleri, antioksidan enzim aktiviteleri, histopatolojik değişimleri ve DNA hasarları tayin edilmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Kimyasalların canlı organizmalar üzerindeki toksik etkilerini anlamak; insan sağlığının ve çevre refahının korunmasında kritik bir rol oynamakta ve toksik maddelerin günlük yaşamlarımızda oluşturduğu riskleri azaltmaya yönelik yaklaşımlar geliştirmek için hayati önem taşımaktadır (Matsumura, 2012). Bu etkileri anlamamanın yolu da toksikoloji bilim dalından faydalanmaktan geçmektedir.

Toksikolojide bir maddenin toksisitesini değerlendirmek için çeşitli teknikler kullanılmaktadır. *In vitro* çalışmalar, bir toksik maddenin hücresel süreçler üzerindeki doğrudan etkilerini değerlendirmek için hücre kültürlerini kullanır. Çoğunlukla laboratuvar hayvanları üzerinde yürütülen *in vivo* çalışmalar ise bir toksik maddenin tüm organizma üzerindeki etkisine ilişkin daha bütünsel bir bakış açısı sağlar. Bu çalışmalar toksik maddelerin hem sistemik etkilerini anlamaya yardımcı olur hem de organa özgü etkilerine, gelişimsel anormalliklere ve potansiyel kanserojenliğe ışık tutabilir (Eaton ve Gilbert, 1996).

In vivo çalışmanın amacına göre akut veya kronik toksisite testi uygulanabilir. Akut toksisite testleri genellikle 24-96 saat aralığında olup deney hayvanının yüksek dozlara/konsantrasyonlara vereceği yanıtı tayin etmek için kullanılmakta, kronik toksisite testleri ise organizmayı daha düşük konsantrasyonlara 1 hafta ila 1 aya kadar (veya daha uzun süre) maruz bırakarak özellikle gelişim ve üreme gibi uzun süreçleri takip etmek için gerçekleştirilmektedir (Reish ve Oshida, 1987; Saed, 2020; Ünsal, 1998).

Sucul akut toksisite testlerinde ise genellikle Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD)'nin 203 numaralı "Balık Akut Toksisite Testi" rehberi uygulanmaktadır. Bu rehberde göre balıklar test edilen kimyasala 96 saat maruz bırakılmalı, mortalite ile görünüm ve davranışa ait anomaliler kaydedilmeli ve mümkün olan koşullarda balıkların %50'sini öldüren konsantrasyon (LC₅₀) belirlenmelidir (OECD, 2019). Bununla beraber sucul omurgasızların (örneğin kerevit gibi kabukluların) test koşullarına ilişkin böyle bir rehber bulunmamaktadır. Bu nedenle sucul omurgasızların denek olarak kullanıldığı toksisite çalışmalarında da genellikle OECD'nin 203

numaralı rehberi uygulanmaktadır (Banaee vd., 2019; Stara vd., 2019; X. Gao vd., 2021). Pestisitlerin kerevitlerde toksik etkilerini araştıran birçok çalışma olmasına karşın elbette balıklarda yapılan toksikoloji çalışmalarına kıyasla nispeten az sayıda ve yeni çalışmalar olduğunu söylemek mümkündür. Bu çalışmalardan bazılarını aşağıda değinilmiştir.

Lidova vd. (2019) 2 farklı pestisit (etken maddeleri sipermetrin ve deltametrin) 5 farklı kerevit türündeki (*Procambarus virginalis*, *P. clarkii*, *Pacifastacus leniusculus*, *Faxonius limosus* ve *Cherax destructor*) toksisite düzeylerini araştırmışlardır. Bu çalışmada iki pestisit de test edilen tüm kerevitler için aşırı derecede toksik olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar, sipermetrin etken maddeli pestisit 96 saatlik LC₅₀ değerlerinin 0,09 ile 0,30 µg/L, deltametrin etken maddeli pestisit ise 0,03 ile 0,76 µg/L arasında değiştiğini rapor etmişlerdir. Benzer şekilde Yuan vd. (2019) de sipermetrin pestisitinin *Cherax quadricarinatus*'a karşı 96 saatlik LC₅₀ değerinin 0,22 µg/L olduğunu bildirmişlerdir.

Diazinon pestisitinin iki farklı kerevit türünde (*Faxonius limosus*, sinonim: *Orconectes limosus* ve *Pacifastacus leniusculus*) toksisite seviyesinin araştırıldığı başka bir çalışmada (Buřić vd. 2013), kerevitler 96 saatlik akut toksisite testine tabi tutulmuş, diazinon pestisitinin yüksek derecede toksik olduğu ve 0,15 ile 0,51 mg/L arasında değişen (farklı yaş gruplarında) LC₅₀ değerleri hesaplandığı bildirilmiştir. Buřić vd. (2013) bu sonuçlara istinaden çevresel diazinon maruziyetinin azaltılmasını ve hatta dünya çapında kullanımının sınırlandırılmasını önermişlerdir.

Bir diğer benzer araştırmada (Barbee vd., 2010) klorantraniliprol pestisitinin *Procambarus clarkii*'deki 96 saatlik LC₅₀ değerleri belirlenmiştir. Bu pestisit test edilen kerevitlere aşırı toksik etki gösterdiği ve LC₅₀ değerinin 951 µg/L olarak hesaplandığı bildirilmiştir. Yine benzer bir çalışmada atrazin, heksazinon, metribuzin, prometryn, simazin ve terbutryn pestisitlerinin *Pasifastacus leniusculus*'ta düşük toksisite gösterdikleri ve 96 saatlik LC₅₀ değerlerinin 12,1 ile 77,9 mg/L arasında değiştiği belirtilmiştir (Velisek vd., 2013).

Elbette yalnızca LC₅₀ değerlerini belirlemek yeterli olmamakta, pestisitlerin ne gibi etkiler gösterdiklerini anlamak için kerevitleri pestisitlerin subletal konsantrasyonlarına maruz bırakarak da denemeler yapmak gerekmektedir. Literatürde bu minvalde farklı pestisitlerle yapılan birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda genellikle kerevitleri pestisitlerin subletal konsantrasyonlarına 96 saat süreyle maruz bırakarak hemolenf biyokimyası, antioksidan enzim aktiviteleri, immün yanıtlar (zaman zaman gen ifade düzeyleri), genotoksisite ve histopatolojik bulgular gibi parametreler incelenmektedir. Örneğin Alkan Uçkun ve Barım Öz (2020) *Pontastacus leptodactylus*'ta penkonazol pestisitinin toksik etkilerini araştırmışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre penkonazolun subletal konsantrasyonları kerevitlerde karboksilesteraz, asetilkolinesteraz ve ATPaz enzim aktivitelerini düşürmüş, antioksidan enzimlerin (süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon-s-transferaz) ise artmasına neden olmuştur. Bu sonuçlara göre araştırmacılar penkonazol pestisitinin kerevitte ciddi toksik etkileri olduğu sonucuna varmışlardır.

Bir başka çalışmada imidakloprid pestisitinin kerevitlerde (*Faxonius rusticus*, sinonim: *Orconectes rusticus*) davranışsal değişikliklere neden olduğu bildirilmiştir (Sohn vd., 2018). Bu araştırmada imidakloprid pestisitine 10 gün süreyle maruz bırakılan bireylerin tehditlere karşı kayıtsız kaldığı ve yüksek konsantrasyona maruz bırakılan bireylerin sırt üstü bırakıldıklarında kendilerini 30 saniye içerisinde düzeltemedikleri rapor edilmiştir. Sohn vd. (2018) bu pestisit maruziyetinin kerevitlerin savunma davranışını azaltarak hayatta kalma yetilerini etkileyebileceğini ileri sürmüşlerdir.

Zhang vd. (2023) *Procambarus clarkii*'de glufosinate-ammonium (GLA) pestisitinin toksik etkilerini araştırmışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre GLA maruziyeti hepatopankreasta histopatolojik değişimlere ve hemolenfte toplam hemosit sayısının azalmasına neden olmuştur. Bununla birlikte kerevitlerin hepatopankreasında reaktif oksijen türleri üretiminin arttığı, glutatyon gen ifadesinin ve katalaz aktivitesinin ise inhibe edildiği bildirilmiştir. Ayrıca hemolenfteki bağışıklıkla ilişkili enzimlerin (asit fosfataz, alkalın fosfataz ve lizozim) gen ifade düzeylerinin azaldığı belirlenmiştir. Zhang vd. (2023) bu bulgular ışığında GLA'nın hepatopankreasta yapısal hasara neden

olduğuna ve kerevitlerin antioksidan kapasitesini ve doğal bağışıklığını dűşürdüđüne kanaat getirmişlerdir.

Yuan vd. (2023)'nin araştırmasında subletal konsantrasyonlarda sipermetrin maruziyetinin 96 saatin sonunda *Cherax quadricarinatus*'ta süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitesini inhibe ettiği; malondialdehit, protein karbonil, glutatyon peroksidaz, 7-etoksiresorufin-o-deetilaz, karboksil esteraz ve glutatyon-s-transferaz içeriğini arttırdığı ortaya konulmuştur. Ayrıca ATPaz, fenoloksidaz ve alkalın fosfataz enzimlerinin de azaldığı bildirilmiştir. Tüm bunlara ek olarak kerevitlerin ısı şok proteini (*hsp70*) ve çoklu ilaç direnci ile ilişkili protein-2 (*abcc2*) gen ifadelerinin arttığı rapor edilmiştir. Bu verilere göre Yuan vd. (2023) sipermetrin pestisitinin *C. quadricarinatus*'ta immün toksisiteye ve hepatopankreasta oksidatif hasara neden olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Literatürde bu tez çalışmasında kullanılan cyprodinil, glyphosate isopropilamin tuzu ve indoxacarb etken maddeli pestisitlerin kerevitlerde toksik etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Öte yandan glyphosate etken maddeli bir pestisit *Pontastacus leptodactylus*'ta toksik etkilerini araştıran bir çalışma daha önce yapılmıştır. Fakat glyphosate isopropilamin tuzu, glyphosate pestisitinin farklı bir formölasyonudur. Bahsi geçen çalışmada (Banaee vd., 2019) glyphosate etken maddeli pestisit 96 saatlik LC₅₀ değeri 7,83±0,50 mg/L olarak tespit edilmiştir. Akabinde kerevitler bu pestisit subletal konsantrasyonlarına 7 gün süreyle maruz bırakılmıştır. Banaee vd. (2019)'nin elde ettiği sonuçlara göre kerevitlerin laktat dehidrogenaz ve gama glutamil transferaz enzim aktiviteleri artış göstermiştir. Buna karşın asetilkolin esteraz, alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, alkalın fosfataz ve fenoloksidaz aktivitelerinde ise azalma gözlenmiştir. Kerevitlerin hemolenfindeki toplam protein ve kolesterol seviyelerinin ise 7 gün sonunda dűştüđu bildirilmiştir. Ayrıca pestisite maruz bırakılan kerevitlerde trigliserit ve glikoz düzeyleri artış göstermiştir. Sonuç olarak Banaee vd. (2019) glyphosate pestisitinin *P. leptodactylus*'ta hücrel homeostazinin çökmesine ve hemolenf biyokimyasında değişikliklere neden olabileceğini ve bu durumun kerevitlerin hayatta kalmasını etkileyebileceğini ileri sürmüşlerdir.

Cyprodinil, glyphosate isopropilamin tuzu ve indoxacarb etken maddeli pestisitlerin bu tezde tercih edilme nedenleri: (i) daha önce araştırılmadıkları için çalışmanın özgün olması, (ii) Eğirdir Gölü civarındaki elma yetiştiricilik faaliyetlerinde yaygın olarak kullanılmaları (il bazında hangi pestisit kullanıldığına dair bir veri sağlayıcısı yoktur ancak bu pestisitler Eğirdir'deki zirai ilaç firmaları ile yapılan telefon görüşmeleri sonucunda belirlenmiştir), (3) üç farklı pestisit grubunu (sırasıyla fungusit, herbisit ve insektisit) temsil etmeleri ve (4) ülkemizde kullanımlarının henüz (1 Ağustos 2023 tarihi itibarıyla) yasaklanmamış olmasıdır (URL-20, 2023).



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu çalışmada deney hayvanı olarak kullanılan dar pençeli kerevit (*Pontastacus leptodactylus*) örnekleri Eğirdir Gölü'nden temin edilmiştir. Eğirdir Gölü, Isparta ili sınırları içerisinde yer alan tektonik-karstik oluşumlu bir tatlı su gölüdür (Coşkun ve Ertan, 2016; Kazancı, 1993). Deniz seviyesinden 916 m yukarıda yer alan bu gölün yüzölçümü 468 km²'dir ve 16,5 m'lik azami derinliğe sahiptir (Hoşgören, 1994; URL-21, 2024). Gerek barındırdığı ekonomik öneme sahip çeşitli sucul türler (kerevit, sudak, sazan gibi) gerekse ev sahipliği yaptığı birçok kuş türü bakımından (URL-22, 2024) ekolojik اهممىيىتى olan Eğirdir Gölü, turizm açısından da bölge halkı için kayda değer bir konuma sahiptir (Korkmaz ve Başkalkan, 2011). Ayrıca göl civarında brüt 50.000 hektardan fazla tarım alanı bulunmaktadır (Esendal, 2007) ve bu tarım alanlarından kaynaklanan ve göle taşınan pestisitler Eğirdir Gölü'nde yaşayan organizmalar için birer tehlike unsurudur.

Araştırmada cinsiyet farkı gözlemlenmeksizin kabuk değişirme evresinde olmayan, yetişkin ve görünürde sağlıklı toplam 280 adet dar pençeli kerevit bireyi kullanılmıştır. Bireyler (400 adet) pinter aracılığıyla avlanmıştır. Avlanan örnekler Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akuatik Toksikoloji Laboratuvarı'na canlı olarak getirilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Çalışmada kullanılmak üzere avlanan ve laboratuvara getirilen kerevit bireyleri

Araştırmada kullanılan, FRAGMAN® 50 WG (%50 cyprodinil), KNOCK OUT® (480 g/L glyphosate isopropilamin tuzu) ve GREMLIN® (150 g/L indoxacarb) ticari adlarıyla piyasada olan pestisit formülasyonları ise zirai ilaç firmalarından temin edilmiştir. Üç pestisit formülasyonu da Hektaş Ticaret T.A.Ş. (Türkiye) etiketi ile satılmakta olup KNOCK OUT® Takimsan Tarım Kimya San. ve Tic. A.Ş. (Türkiye) tarafından üretilirken diğer iki pestisit Hektaş'ın kendi imalatıdır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Kerevitlerin Barındırılması

Laboratuvara getirilen dar pençeli kerevitler ortam sıcaklığına birkaç saat süreyle alıştırdıktan sonra 100 L kapasiteye sahip, 80 L kloru uçurulmuş çeşme suyu içeren dikdörtgen cam akvaryumlara 10'ar adet olacak şekilde yerleştirilmişlerdir. Kerevitler yerleştirilirken fiziksel muayeneye tabi tutulmuş ve görünürde sağlıklı olmayanlar ile deneye uygun boyutta olmayan veya üreme döneminde olanlar deneyden çıkarılmak

üzere ayrılmıştır. Kerevitler 14 gün boyunca aklimasyon dönemine alınmış ve deneme gerçekleştirilinceye kadar 2 mm alabalık yemiyle (Özpekler Yem, Denizli) gün aşırı beslenmişlerdir. Akvaryumlar hem aklimasyon sürecinde hem de denemeler süresince sürekli olarak hava motoru ile havalandırılmıştır. Araştırma süresince doğal fotoperiyot (yaklaşık 12 saat gündüz, 12 saat gece) uygulanmıştır. Aynı zamanda kerevitleri stresten korumak maksadıyla saklanma gereksinimlerini karşılamak için her akvaryuma 10 adet 15 cm uzunluğunda 8 cm çapında PVC borular yerleştirilmiştir (Şekil 3.2). Sıcaklık, pH ve çözülmüş oksijen seviyeleri denemeler süresince günlük olarak Hach Lange (HQ40D, ABD) multiparametre ile ölçülmüştür. Deneylerden önce her bir kerevitin boy ve ağırlığı kumpas ve hassas terazi yardımıyla belirlenerek kayıt altına alınmıştır. Toksikoloji deneylerinden 24 saat önce yemleme durdurulmuş ve deneyler sırasında yemleme yapılmamıştır.

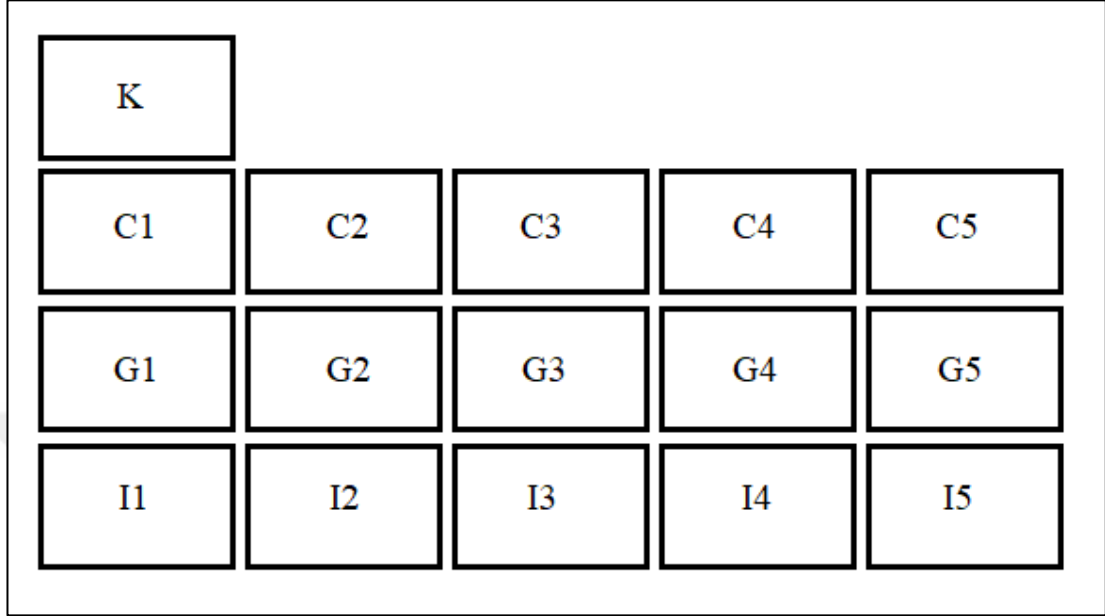


Şekil 3.2 Çalışmada kullanılan akvaryum düzeni ve kerevitler

3.2.2 LC₅₀ Değerlerinin Belirlenmesi

Bu çalışma, LC₅₀ konsantrasyonlarının belirlenmesi (birinci aşama) ve subletal toksikoloji deneyleri (ikinci aşama) olmak üzere iki aşamada yürütülmüştür. Birinci aşamada ortalama ağırlık ve boyları sırasıyla $43,7 \pm 0,2$ g ve $11,0 \pm 0,1$ cm olan toplam 160 adet dar pençeli kerevit; ikinci aşamada ise ortalama ağırlık ve boyları sırasıyla $45,4 \pm 0,3$ g ve $12,1 \pm 0,1$ cm olan 120 adet dar pençeli kerevit bireyi kullanılmıştır. İlk aşamada bahsi geçen 160 adet kerevit, grup başına 10'ar birey olacak şekilde 16

akvaryuma rastgele dağıtılmıştır. Bu akvaryumlara ilişkin deney düzeneği Şekil 3.3'te verilmiştir.

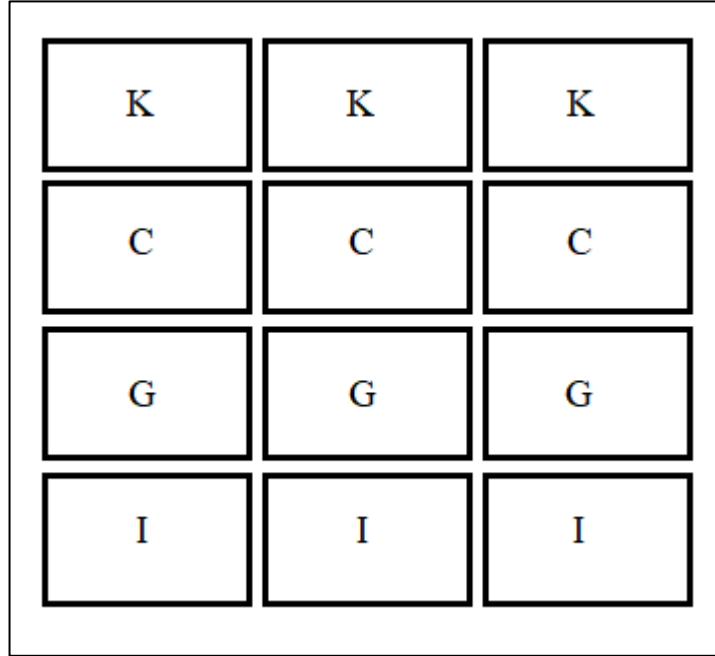


Şekil 3.3 Birinci aşamaya (LC₅₀ düzeylerinin belirlenmesi) ilişkin deney düzeneği (K: Kontrol grubu, C1-5: Cyprodinil grupları, G1-G5: Glyphosate isopropilamin tuzu grupları, I1-5: Indoxacarb grupları)

LC₅₀ konsantrasyonlarının belirlenmesi OECD (2019)'ye göre 96 saatlik yarı statik akut toksisite testi ile gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.3'te görüldüğü üzere bu aşamada tekerrür kullanılmamıştır. Bunun temel nedeni yeterli sayıda akvaryuma sahip olunmamasıdır. Nitekim OECD (2019)'ye göre LC₅₀ konsantrasyonu belirlenirken tekerrür kullanılmasına ihtiyaç yoktur. Buna göre bir adet kontrol grubu ve 15 adet deneme grubu oluşturulmuş, deneme grupları ilgili pestisit aralındaki geometrik katsayı 2,2 olacak şekilde 5 farklı konsantrasyonuna 96 saat süreyle maruz bırakılmıştır. Akvaryumlardaki suyun %50'si 24 saatte bir değiştirilmiş ve pestisit konsantrasyonunun nominal düzeyde kalması için maruz bırakılan konsantrasyonun %50'si yeniden akvaryuma eklenmiştir. Denemenin 24, 48, 72 ve 96. saatlerinde ölüm oranları kaydedilmiş, ölü kerevitler akvaryumlardan çıkarılmış ve 96. saatin sonunda Probit analizi ile LC₅₀ konsantrasyonları hesaplanmıştır (Banaee vd., 2019).

3.2.3 Subletal Toksikoloji Deneyi

Araştırmanın ikinci aşamasında cyprodinil, glyphosate isopropilamin tuzu ve indoxacarb etken maddeli pestisitlerin akut subletal toksik etkilerinin belirlenmesi amacıyla bir deneme düzeneği daha oluşturulmuştur (Şekil 3.4). Bu düzenekte 4 farklı grup oluşturulmuş (K = Kontrol, C = Cyprodinil, G = Glyphosate isopropilamin tuzu ve I = Indoxacarb), 3 tekerrürlü olarak toplamda 12 akvaryuma akvaryum başına 10 dar pençeli kerevit olacak şekilde rastgele dağıtılmış ve çalışmada belirlenen LC₅₀ konsantrasyonunun %20'sine (C, G ve I için sırasıyla 3,68; 11,94 ve 2,63 mg/L) 96 saat süreyle maruz bırakılmıştır. Kontrol grubu ise herhangi bir maddeye maruz bırakılmamıştır. Bu aşama da yarı statik olarak uygulanmış, suyun %50'si 24 saatte bir değiştirilmiş ve her pestisit verilen konsantrasyonunun %50'si su değişiminden sonra yeniden akvaryumlara ilave edilmiştir (Şekil 3.5). Her iki aşamada da kontrol grubunun da suyu deneme gruplarında olduğu gibi değiştirilmiş ve pestisit eklenmesi sürecinden (eklenmesi ve akabinde karıştırılması) kaynaklanabilecek stresi taklit etmek için kontrol grubuna da herhangi bir madde içermeyen su eklenmiş ve karıştırılmıştır.



Şekil 3.4 İkinci aşamaya (subletal toksikoloji testi) ilişkin deney düzeneği (K: Kontrol grupları, C: Cyprodinil grupları, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grupları, I: Indoxacarb grupları)



Şekil 3.5 Akvaryumlara eklenmek üzere hazırlanan pestisit karışımları (a: Cyprodinil, b: Glyphosate isopropilamin tuzu, c: Indoxacarb, D: kontrol grubu, yalnızca su)

3.2.4 Örnek Toplama

Subletal toksikoloji deneyinin bitiminde (96. saatte) her akvaryumdan 3 adet olmak üzere, toplamda grup başına 9 adet dar pençeli kerevit bireyine buz üstünde anestezi uygulanarak 0,5 ml antikoagülan (0,14 M NaCl, 0,1 M Glikoz, 30 mM Trisodyum sitrat, 26 mM Sitrik asit, 10 mM EDTA, pH 4,6) ihtiva eden 2 mL’lik şırıngalar vasıtasıyla ventral abdomenden (Persson vd., 1987) yaklaşık 1,5 mL hemolenf örneği alınmıştır (Johansson ve Söderhäll, 1985) (Şekil 3.6). Hemolenf örneklerinin bir kısmı (18 µL) tek hücre jel elektroforezi (Comet Assay) için hemen kullanılmış, kalanı ise 4 °C ve 6.000 RCF’de 15 dk süreyle santrifüj edilmiş (Banaee vd., 2019) ve süpernatantı alınarak elde edilen plazma, ilgili biyokimyasal analizlere dek -20 °C’de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.6 Kerevitlerden hemolenf alma işlemi

Hemolenf numuneleri alınan dar pençeli kerevit bireylerine, buz üzerinde ötanazi uygulanmış ve steril diseksiyon aletleri yardımıyla hepatopankreas örnekleri toplanmıştır. Hepatopankreas örneklerinin yarısı histopatolojik inceleme için, diğer yarısı ise lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi için

kullanılmıştır. Bu amaçla histopatolojik inceleme için kullanılacak olan kısım hemen fiksatife alınmış, lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılacak kısım ise homojenizasyon tampon çözeltisi (Alkan Uçkun ve Barım Öz, 2020) içerisinde homojenize edildikten (Şekil 3.7) sonra 4 °C ve 16.000 RCF’de 20 dk santrifüj edilip süpernatantı alınarak ilgili analizlere kadar -20 °C’de saklanmıştır.



Şekil 3.7 Hepatopankreas homojenizasyon işlemi

3.2.5 Biyokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi

Pestisitlerin subletal dozlarının akut toksik etkilerini belirlemek amacıyla kerevitlerde alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), alkalın fosfataz (ALP), laktat dehidrogenaz (LDH), glikoz, trigliserit, kolesterol, toplam protein ve albümin analizleri yapılmıştır (Banaee vd., 2019; Karasu Benli vd., 2016; Saed, 2020). Globulin değerleri ise toplam proteinden albüminin çıkarılması ile elde edilmiştir (Busher, 1990). Bu analizler, “Örnek Toplama” başlığı altında belirtilen şekilde elde edilen hemolenf plazmasından gerçekleştirilmiştir. Bioanalytic (Türkiye) ve Improgen (Türkiye) marka diagnostik kitleri (EK-A) kullanılarak üretici firma protokolüne göre yapılan analizlerin okumaları MultiSkan GO (ThermoFisher Scientific, ABD) spektrofotometresinde gerçekleştirilmiştir.

3.2.6 Lipit Peroksidasyonu ve Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Kerevitlerdeki doku hasarı ve antioksidan enzim aktiviteleri hepatopankreas dokusundan belirlenmiştir (Alkan Uçkun ve Barım Öz, 2020; Stara vd., 2018). Bu işlemlerde “Örnek Toplama” başlığında belirtilen yöntemle elde edilen hepatopankreas süpernatantı kullanılmıştır. Doku hasarının belirlenmesi için süpernatanttan malondialdehit (MDA) düzeyi TBARS yöntemiyle CAYMAN marka (ABD) ticari kit (EK-A) kullanılarak belirlenmiştir. Antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, KAT, GPx) ise yine hepatopankreas süpernatantından tayin edilmiştir. KAT aktivitesi Goth (1991)’un yöntemine göre analiz edilirken SOD ve GPx aktiviteleri ticari kitler (BT Lab, Çin) yardımıyla spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir (EK-A).

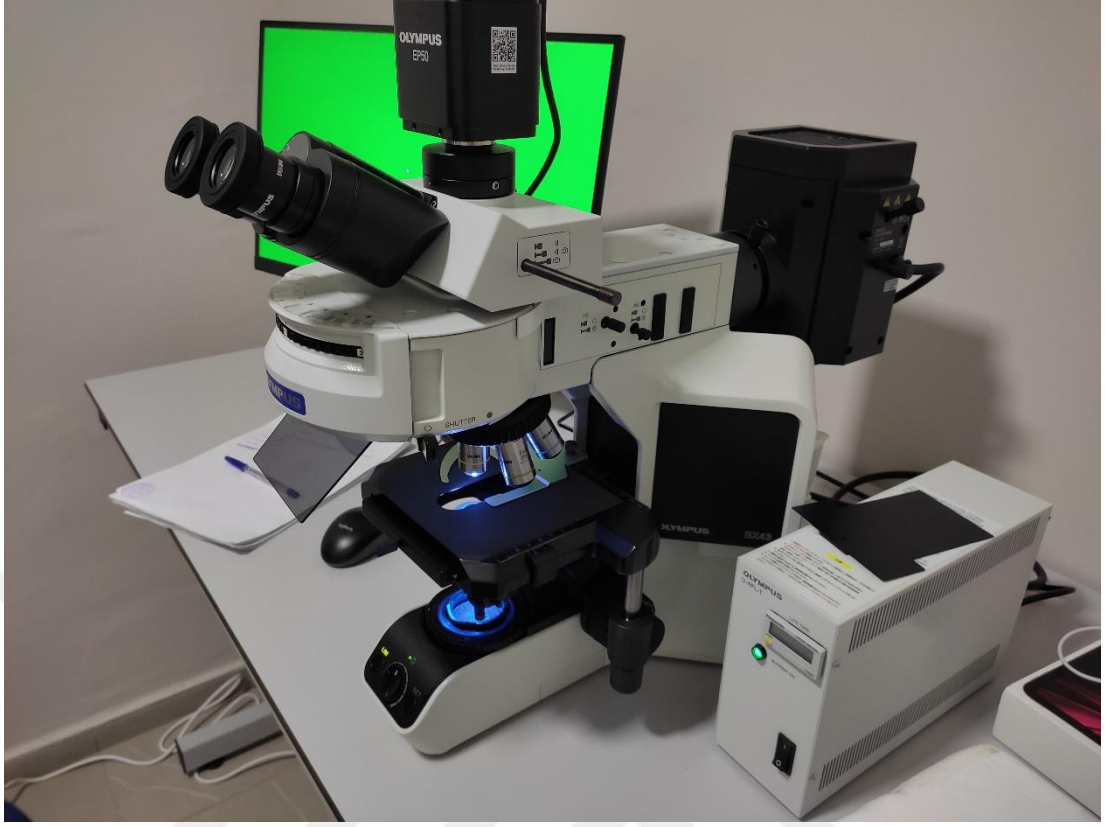
3.2.7 Histolojik İnceleme

Subletal pestisit konsantrasyonuna maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerden 96 saatin sonunda alınan hepatopankreas dokuları %10 formalin solüsyonunda tespit edilmiş, 48 saat sonra %70’lik etanol çözeltisine geçirilmiştir. Akabinde rutin histolojik yöntemler kullanılmıştır. Kısaca, dokular 4 kez %70’lik etanol ile yıkanmış, isopropanol ile suyu alınmış, ksilen ile saydamlaştırılmış, parafine gömülmüş ve mikrotom aracılığıyla beşer µm kalınlığında kesitler alınmıştır (Luna, 1968). Son olarak lama aktarılan kesitler hematoksilen & eozin ile boyanarak ışık mikroskobu altında görüntülenmiş ve fotoğraflanmıştır. Rastgele seçilen 10 görüntü alanındaki histolojik değişimler hasar şiddetine göre doku değişim ölçeği ile değerlendirilmiştir. Bütün numuneler yarı nicel skorum sistemi ile puanlanmış ve her kritere tespit edilen değişikliğin şiddetine göre skorum yapılmıştır (0: Hasar yok, 1: Hafif hasar, 2: Orta derecede hasar, 3: Ciddi hasar, 4: Çok ciddi hasar).

3.2.8 Genotoksik Etkinin Belirlenmesi

Pestisitlerin neden olduğu genotoksik etki tek hücre jel elektroforezi (Comet Assay) yöntemiyle tespit edilmiştir (Malev vd., 2010; Saed, 2020; Singh vd., 1988). Bunun için kerevitlerden subletal konsantrasyona maruziyetin 96. saatinde alınan taze hemolenf örnekleri kullanılmıştır. Rodajlı lamalar, analizin 24 saat öncesinde normal

erime ısılı agaroz (NMP agaroz) ile kaplanmıştır (1. Tabaka). Hemolenften 18 µL alınarak 1 mL Ca ve Mg içermeyen PBS ile karıştırılmıştır. Elde edilen hücre süspansiyonundan alınan 10 µL numune, 37 °C’de bekletilmiş 75 µL düşük erime ısılı agaroz (LMP agaroz) ile karıştırılmıştır. Hazırlanan karışımdan 75 µL alınarak önceden üzerleri NMP ile kaplanan lamalara aktarılmış ve üzerleri lamelle kapatılmıştır (2. Tabaka). Bu tabakanın donması için 10 dakika +4 °C’de bekletilmiştir. Son tabakayı (3. Tabaka) oluşturmak için ise %0,5’lik LMP’den 75 µL eklenmiş ve üzeri kapatılmadan 4 °C’de 10 dk süreyle agarozun donması beklenmiştir. Elde edilen slaytlar daha önce hazırlanan ve 4 °C’de bekletilen liziz solüsyonu içerisinde karanlık ortamda 2 saat boyunca bekletilmiştir. Daha sonra slaytlar 4 °C’de elektroforeze yerleştirilmiş ve sıcaklığın dengelenmesi için 30 dakika boyunca bekletilmiştir. Akabinde örnekler 4 °C sıcaklıktaki elektroforezde 24 V 300 mAh’da 30 dakika boyunca yürütülmüştür. Slaytlar daha sonra nötralize tampon çözeltisi içerisine alınmış ve burada 10 dakika bekletildikten sonra 5 dk süreyle saf su ile yıkamış ve akabinde 0,5 µg/mL etidium bromür ile 10 dakika boyunca boyanmıştır. Bu analizde negatif kontrol olarak herhangi bir pestisite maruz bırakılmayan grubun hemolenfi kullanılmıştır. Ayrıca, negatif kontrol grubunun hemolenf hücreleri genotoksik etki meydana getirdiği bilinen 50 µL %30’luk hidrojen peroksit (H₂O₂) ile muamele edilmiş ve bu slaytlar pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Son olarak boyanan slaytlar kamera (Olympus EP50, Japonya) ve floresan lamba (Olympus U-RFL-T) ile donatılmış ışık mikroskobunda (Olympus BX43) görüntülenmiş (Şekil 3.8) ve elde edilen fotoğraflar ImageJ programı kullanılarak analiz edilmiştir. Ölçümler için ImageJ programına entegre edilen bir makro yazılmış ve bu makroya ilişkin kod EK-B’de verilmiştir.



Şekil 3.8 Tek hücre jel elektroforezi analizinde hazırlanan slaytların görüntülediği mikroskop

3.2.9 İstatistiki Analiz

Araştırma süresince elde edilen tüm veriler IBM SPSS (versiyon 23.0, ABD) programı kullanılarak analiz edilmiştir. LC₅₀ konsantrasyonları Probit analizi ile hesaplanmıştır. Kerevitlerin ağırlık ve boy verileri, suyun sıcaklık, pH ve çözünmüş oksijen değerleri ve subletal toksikoloji testleri sonrasında elde edilen verilere ilişkin gruplar arasındaki farklar Kruskal-Wallis testi ile belirlenmiş, hangi grupların birbirinden farklı olduğu ise Mann-Whitney testi ile tayin edilmiştir. Veriler ortalama±standart hata olarak verilmiş ve tüm istatistiki analizlerde %95 güven aralığı tercih edilmiştir.

4. BULGULAR

Cyprodinil, glyphosate isopropilamin tuzu ve indoxacarb etken maddeli pestisitlere maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerin ağırlık ve boy verileri Tablo 4.1’de (LC₅₀ değerlerinin belirlenmesinde kullanılan 160 adet kerevitin) ve Tablo 4.2’de (subletal toksikoloji deneyinde kullanılan 120 adet kerevitin) verilmiştir. Her iki kerevit grubuna yönelik yapılan istatistiki analizlerde deneme grupları arasında anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.1 LC₅₀ konsantrasyonlarının belirlenmesinde kullanılan 160 adet dar pençeli kerevitin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama boy ve ağırlık verileri

Gruplar (n: 10)	Ağırlık (g)	Boy (cm)
K	43,3±0,9	10,9±0,2
C1	43,5±0,7	11,2±0,3
C2	43,0±0,7	10,8±0,4
C3	44,6±0,7	11,2±0,3
C4	43,5±1,0	10,9±1,1
C5	42,1±0,7	11,6±0,4
G1	42,5±0,7	10,5±0,3
G2	45,1±0,7	10,8±0,3
G3	43,7±0,9	11,4±0,5
G4	44,8±0,9	10,8±0,3
G5	43,0±0,8	10,3±0,4
I1	43,5±0,9	10,9±0,4
I2	43,6±0,8	11,3±0,3
I3	43,5±0,9	10,9±0,4
I4	44,7±0,6	11,1±0,5
I5	44,3±1,0	11,6±0,4

K: Kontrol grubu, C1-5: Cyprodinil grupları, G1-G5: Glyphosate isopropilamin tuzu grupları, I1-5: Indoxacarb grupları

Tablo 4.2 Subletal toksikoloji deneyinde kullanılan 120 adet dar pençeli kerevitin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama boy ve ağırlık verileri

Gruplar (n: 30)	Ağırlık (g)	Boy (cm)
K	45,3±0,5	12,0±0,2
C	46,2±0,5	12,1±0,2
G	45,3±0,5	12,0±0,2
I	44,8±0,5	12,2±0,2

K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu

Denemeler süresince kayıt altına alınan ortalama sıcaklık, pH ve çözülmüş oksijen değerleri LC₅₀ testi için sırasıyla 14,5±0,3 °C; 7,73±0,13 ve 8,82±0,26 mg/L olarak tespit edilmiştir. Aynı değerlerin subletal toksikoloji deneyinde ise sırasıyla 15,0±0,3 °C; 7,86±0,19 ve 8,46±0,31 mg/L olduğu belirlenmiştir. Bahsedilen su kalitesi parametreleri gruplar bazında LC₅₀ testi için Tablo 4.3’de, subletal toksikoloji testi için ise Tablo 4.4’de verilmiştir.

Tablo 4.3 LC₅₀ deneyindeki suyun sıcaklık, pH ve çözülmüş oksijen değerleri

Gruplar	Sıcaklık (°C)	pH	Çözülmüş Oksijen (mg/L)
K	14,4±0,2	7,70±0,05	8,66±0,16
C1	14,5±0,2	7,69±0,03	8,63±0,20
C2	14,5±0,2	7,53±0,18	8,82±0,16
C3	14,4±0,2	7,73±0,05	8,78±0,21
C4	14,5±0,1	7,79±0,05	8,88±0,06
C5	14,5±0,2	7,78±0,04	8,74±0,14
G1	14,5±0,2	7,80±0,05	8,87±0,10
G2	14,5±0,2	7,71±0,03	8,88±0,08
G3	14,4±0,1	7,74±0,06	8,91±0,09
G4	14,7±0,1	7,75±0,05	8,92±0,17
G5	14,5±0,2	7,69±0,03	8,84±0,05
I1	14,5±0,2	7,79±0,04	8,90±0,15
I2	14,4±0,1	7,73±0,04	8,78±0,15
I3	14,4±0,1	7,74±0,07	8,77±0,24
I4	14,4±0,2	7,84±0,04	8,79±0,11
I5	14,3±0,1	7,68±0,04	8,92±0,05

K: Kontrol grubu, C1-5: Cyprodinil grupları, G1-G5: Glyphosate isopropilamin tuzu grupları, I1-5: Indoxacarb grupları

Tablo 4.4 Subletal toksikoloji deneyindeki suyun sıcaklık, pH ve çözünmüş oksijen değerleri

Gruplar	Sıcaklık (°C)	pH	Çözünmüş Oksijen (mg/L)
K	15,0±0,1	7,85±0,05	8,36±0,10
C	14,9±0,1	7,90±0,06	8,43±0,09
G	15,0±0,1	7,86±0,06	8,58±0,08
I	15,0±0,1	7,82±0,07	8,48±0,09

K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu

4.1 LC₅₀ Değerleri

LC₅₀ denemesinde dar pençeli kerevitlerin 96 saat süreyle maruz bırakıldığı pestisit konsantrasyonları ve 24, 48, 72 ve 96. saatlerde meydana gelen ölüm oranlarından Probit analizi ile hesaplanan LC₅₀ değerleri Tablo 4.5’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre çalışmada kullanılan cyprodinil, glyphosate isopropilamin tuzu ve indoxacarb etken maddeli ticari pestisit formülasyonlarının LC₅₀ değerleri sırasıyla 18,402; 59,715 ve 13,133 mg/L olarak bulunmuştur.

Tablo 4.5 LC₅₀ denemesinde kullanılan pestisit konsantrasyonları ve hesaplanan LC₅₀ değerleri

Pestisit	Konsantrasyonlar (mg/L)					Hesaplanan LC ₅₀ değeri (mg/L)
	1	2	3	4	5	
C	70,28	31,94	14,52	6,6	3	18,402 (p=0,009)
G	100	58,82	34,6	20,35	11,97	59,715 (p=0,007)
I	70,28	31,94	14,52	6,6	3	13,133 (p=0,033)

C: Cyprodinil, G: Glyphosate isopropilamin tuzu, I: Indoxacarb

4.2 Subletal Toksikoloji Bulguları

4.2.1 Biyokimyasal Parametreler

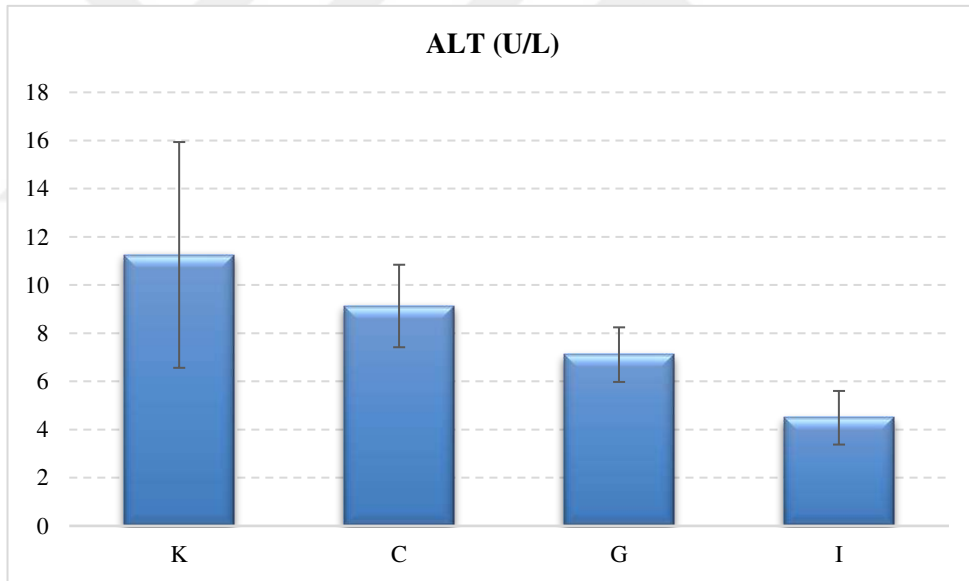
Çalışmada kullanılan pestisitlerin subletal akut toksik etkilerini belirlemek amacıyla yapılan 96 saatlik yarı statik akut toksisite testi sonucunda dar pençeli kerevitlerin hemolenf plazmasındaki biyokimyasal parametrelerde meydana gelen değişiklikler bu

bölümde sunulmuştur. Bu doğrultuda elde edilen alanin aminotransferaz (ALT) değerleri Tablo 4.6 ve Şekil 4.1’de verildiği gibidir. Elde edilen sonuçlara göre tüm deneme gruplarında kontrol grubuna göre bir düşüş olduğu gözlemlense de bu azalmanın istatistiki olarak anlamlı bir fark ortaya çıkarmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.6 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama alanin aminotransferaz (ALT) değerleri

Gruplar	ALT (U/L)
K	11,25±4,69
C	9,13±1,71
G	7,11±1,13
I	4,49±1,11

Veriler ortalama±standart hata olarak verilmiştir (n: 9). K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu



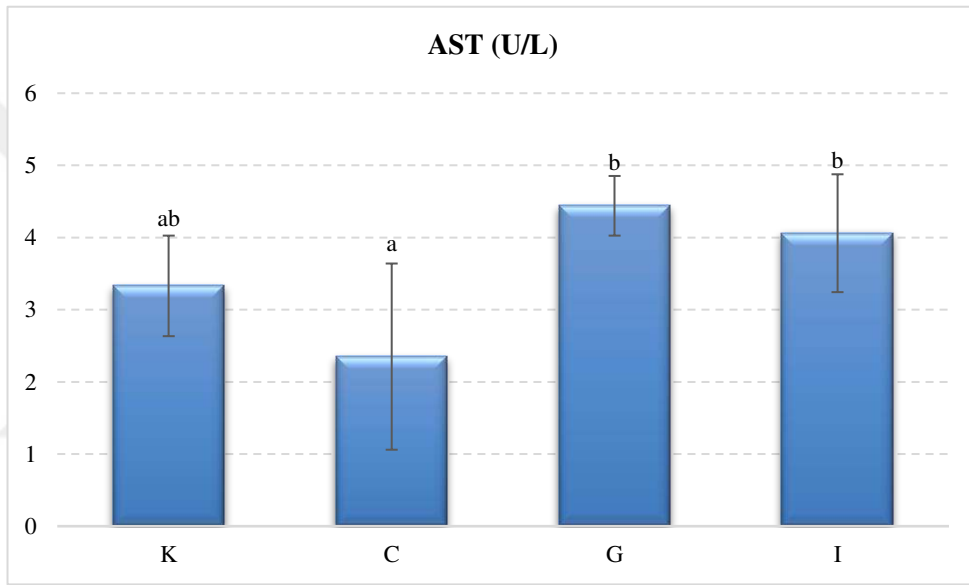
Şekil 4.1 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama alanin aminotransferaz (ALT) değerlerine ilişkin grafik (Hata çubukları: Standart hata, n: 9, K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu)

Hemolenf plazmasından elde edilen aspartat aminotransferaz (AST) değerleri Tablo 4.7 ve Şekil 4.2’de sunulmuştur. Sonuçlara göre tüm deneme gruplarının AST değerlerinde kontrol grubuna kıyasla fark bulunmamasına rağmen ($p>0,05$) cyprodinil etken maddeli pestisite maruz bırakılan kerevitlerin AST değerlerinin, diğer deneme gruplarından daha düşük olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Tablo 4.7 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama aspartat aminotransferaz (AST) değerleri

Gruplar	AST (U/L)
K	3,33±0,70 ^{ab}
C	2,35±1,29 ^a
G	4,44±0,41 ^b
I	4,06±0,82 ^b

Veriler ortalama±standart hata olarak verilmiştir (n: 9). K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu. Aynı sütundaki farklı harfler gruplar arasındaki istatistiki farkı belirtir (p<0,05)



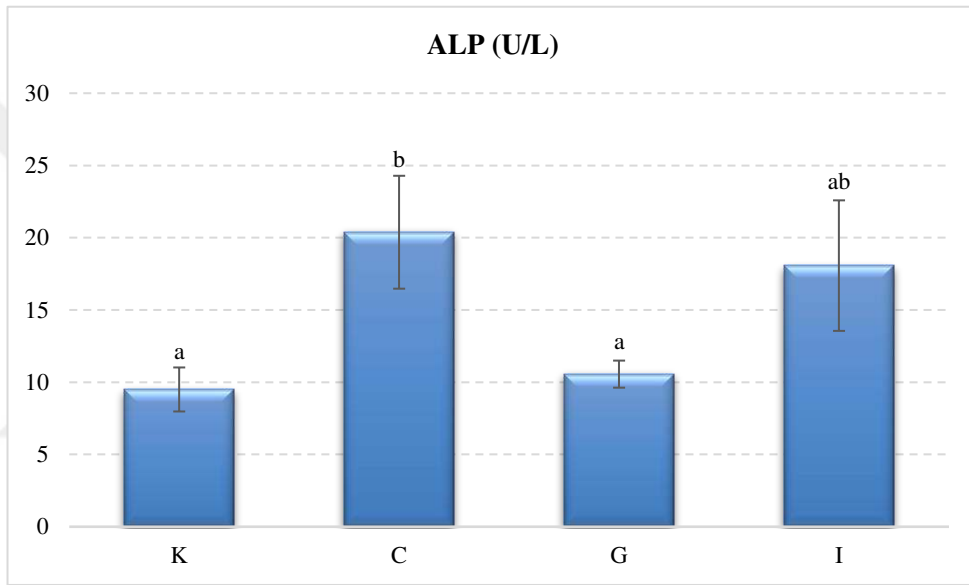
Şekil 4.2 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama aspartat aminotransferaz (AST) değerlerine ilişkin grafik (Hata çubukları: Standart hata, n: 9, K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu, sütunlar üzerindeki farklı harfler gruplar arasındaki istatistiki farkı belirtir, p<0,05)

Çalışmada elde edilen alkalın fosfataz (ALP) değerleri Tablo 4.8 ve Şekil 4.3’de verilmiştir. Cyprodinil etken maddeli pestisite maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerin ALP değerlerinin kontrol grubuna kıyasla arttığı tespit edilmiştir (p<0,05). Bununla beraber diğer deneme gruplarıyla kontrol grubu arasında anlamlı istatistiki fark ortaya çıkmamıştır (p>0,05).

Tablo 4.8 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama alkalın fosfataz (ALP) değeri

Gruplar	ALP (U/L)
K	9,50±1,52 ^a
C	20,38±3,91 ^b
G	10,56±0,94 ^a
I	18,07±4,52 ^{ab}

Veriler ortalama±standart hata olarak verilmiştir (n: 9). K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu. Aynı sütundaki farklı harfler gruplar arasındaki istatistiki farkı belirtir (p<0,05)



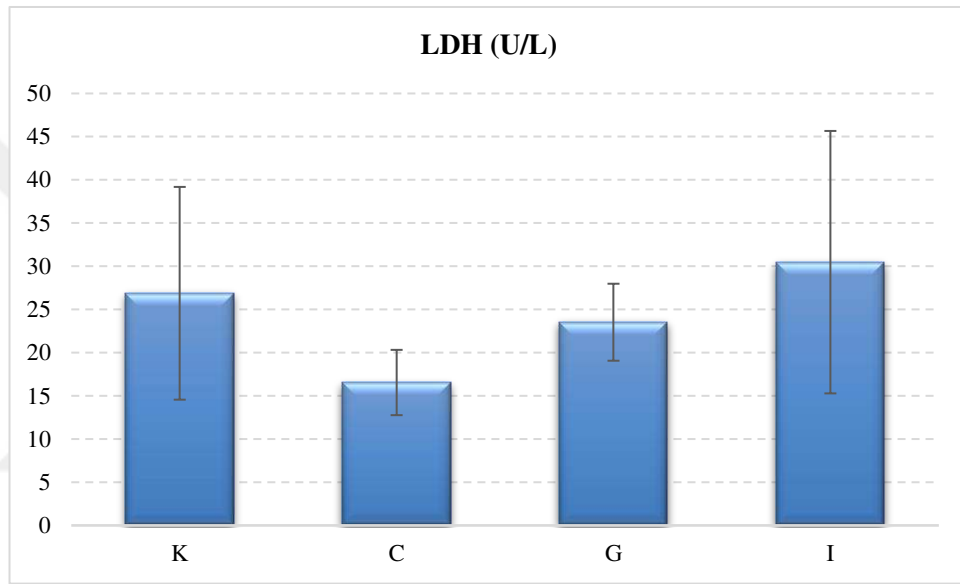
Şekil 4.3 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama alkalın fosfataz (ALP) değeri ile ilgili grafik (Hata çubukları: Standart hata, n: 9, K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu, sütunlar üzerindeki farklı harfler gruplar arasındaki istatistiki farkı belirtir, p<0,05)

Dar pençeli kerevitlerin hemolenf plazmasında tespit edilen laktat dehidrogenaz (LDH) seviyeleri Tablo 4.9 ve Şekil 4.4’de sunulmuştur. LDH değerlerinde kontrol grubuna nazaran bazı gruplarda artış, bazılarında ise azalma var gibi görünse de bu farklılıkların istatistiki olarak anlam ifade etmediği tespit edilmiştir (p>0,05).

Tablo 4.9 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama laktat dehidrogenaz (LDH) değerleri

Gruplar	LDH (U/L)
K	26,87±12,31
C	16,54±3,78
G	15,40±2,42
I	30,47±15,19

Veriler ortalama±standart hata olarak verilmiştir (n: 9). K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu



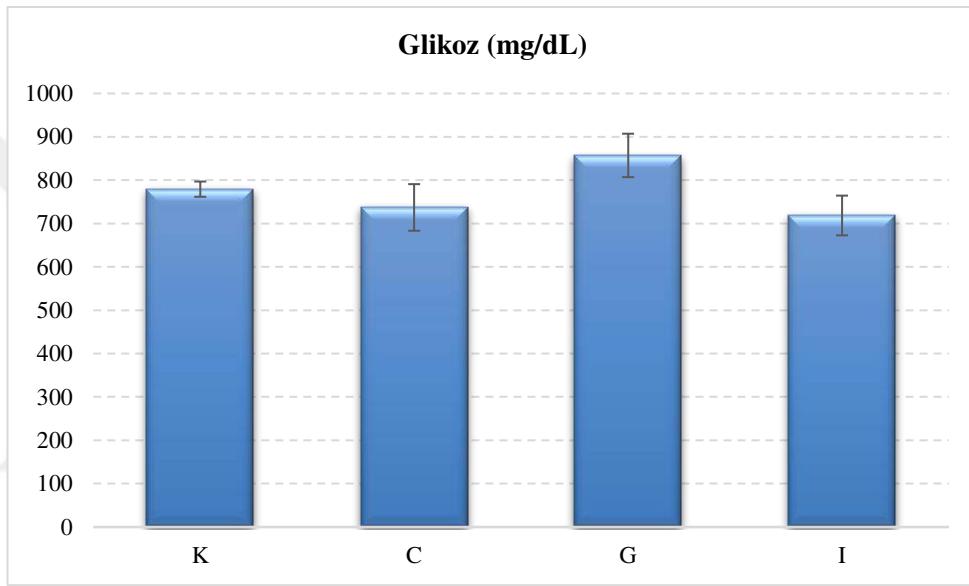
Şekil 4.4 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama laktat dehidrogenaz (LDH) değerlerine ilişkin grafik (Hata çubukları: Standart hata, n: 9, K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu)

Subletal konsantrasyonlarda pestisitlere maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerin 96. saat sonunda hemolenf plazmasından elde edilen glikoz değerleri Tablo 4.10 ve Şekil 4.5'te verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre deneme grupları ve kontrol grubu benzer düzeylerde glikoz değerleri sergilemiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.10 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama glikoz değerleri

Gruplar	Glikoz (mg/dL)
K	779,23±17,62
C	737,09±53,74
G	857,08±50,12
I	718,56±45,83

Veriler ortalama±standart hata olarak verilmiştir (n: 9). K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu



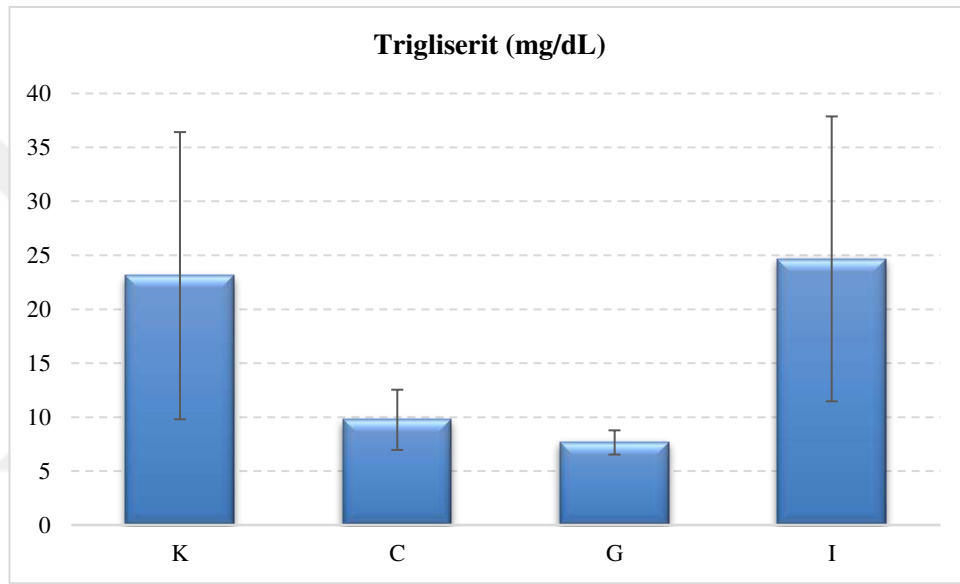
Şekil 4.5 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama glikoz değerlerine ilişkin grafik (Hata çubukları: Standart hata, n: 9, K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu)

Dar pençeli kerevitlerin subletal toksikoloji testi sonrası tespit edilen trigliserit değerleri Tablo 4.11 ve Şekil 4.6'da sunulmuştur. Her ne kadar cyprodinil ve glyphosate isopropilamin tuzu etken maddeli pestisitlere maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerin trigliserit değerleri kontrol grubuna kıyasla daha az olarak tespit edilse de bu farklılığın istatistiki olarak anlam ifade etmediği belirlenmiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.11 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama trigliserit değerleri

Gruplar	Trigliserit (mg/dL)
K	23,11±13,31
C	9,75±2,79
G	7,65±1,12
I	24,67±13,20

Veriler ortalama±standart hata olarak verilmiştir (n: 9). K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu



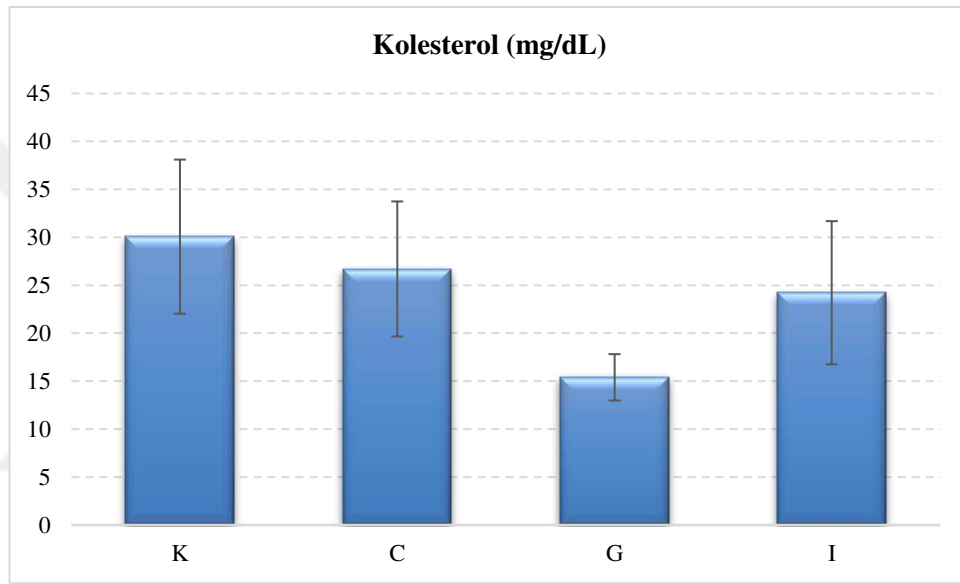
Şekil 4.6 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama trigliserit değerlerine ilişkin grafik (Hata çubukları: Standart hata, n: 9, K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu)

Doksan altı saatlik pestisit maruziyetinden sonra dar pençeli kerevitlerin hemolenf plazmasında belirlenen kolesterol değerleri Tablo 4.12 ve Şekil 4.7’de sunulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre deneme gruplarının tümünde kontrol grubundan hafifçe düşük değerler tespit edilse de grupların istatistiki olarak birbirlerinden anlamlı bir farka sahip olmadığı müşahade edilmiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.12 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama kolesterol değerleri

Gruplar	Kolesterol (mg/dL)
K	30,07±8,03
C	26,70±7,04
G	15,40±2,42
I	24,22±7,47

Veriler ortalama±standart hata olarak verilmiştir (n: 9). K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu



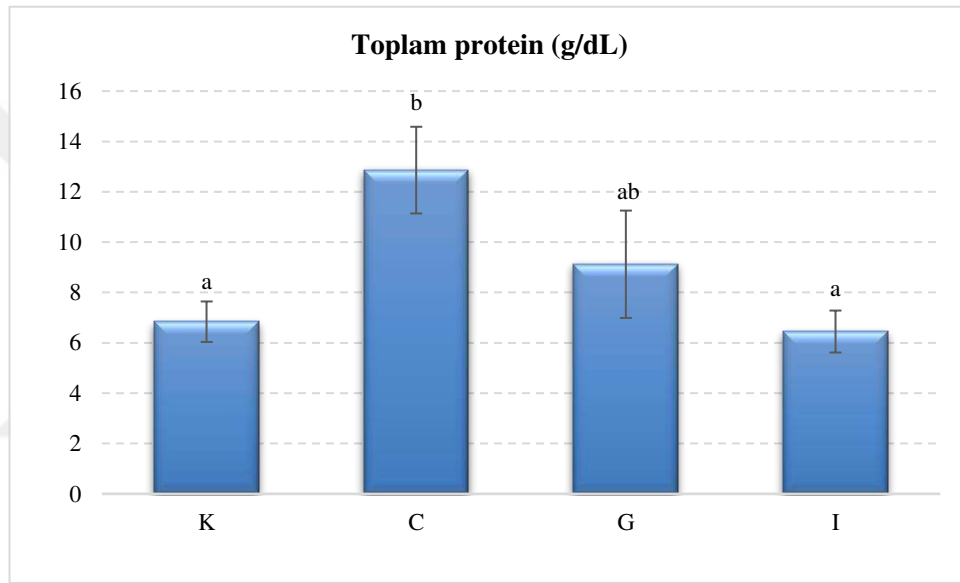
Şekil 4.7 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama kolesterol değerlerine ilişkin grafik (Hata çubukları: Standart hata, n: 9, K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu)

Deneme sonunda hemolenf plazmasından tayin edilen toplam protein miktarları Tablo 4.13 ve Şekil 4.8’de verildiği gibidir. Bu verilere göre cyprodinil etken maddeli pestisite maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerin toplam protein miktarlarının kontrol grubuna kıyasla arttığı gözlenmiştir ($p<0,05$). Öte yandan cyprodinile maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerin toplam protein miktarı, indoxacarba maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerinkinden de yüksek bulunmuş ($p<0,05$) fakat diğer gruplar arasında herhangi bir anlamlı istatistiki fark olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.13 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama toplam protein değerleri

Gruplar	Toplam Protein (g/dL)
K	6,84±0,80 ^a
C	12,86±1,72 ^b
G	9,12±2,13 ^{ab}
I	6,45±0,83 ^a

Veriler ortalama±standart hata olarak verilmiştir (n: 9). K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu. Aynı sütundaki farklı harfler gruplar arasındaki istatistiki farkı belirtir (p<0,05)



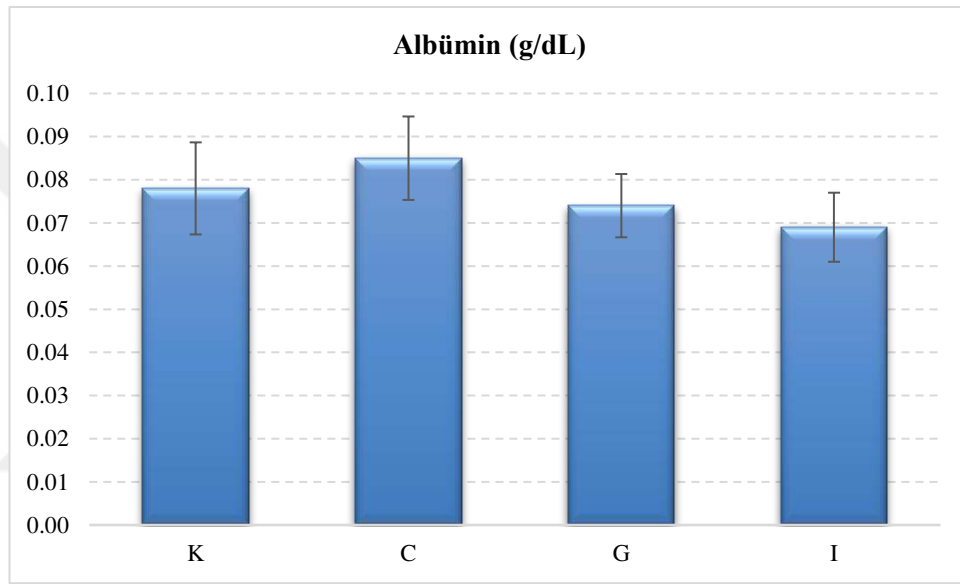
Şekil 4.8 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama toplam protein değerlerine ilişkin grafik (Hata çubukları: Standart hata, n: 9, K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu, sütunlar üzerindeki farklı harfler gruplar arasındaki istatistiki farkı belirtir, p<0,05)

Hemolenf plazmasından tayin edilen albümin verileri Tablo 4.14 ve Şekil 4.9’da sunulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre tüm grupların albümin değerleri birbirine benzer olarak bulunmuştur (p>0,05).

Tablo 4.14 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama albümin değerleri

Gruplar	Albümin (g/dL)
K	0,078±0,011
C	0,085±0,010
G	0,074±0,007
I	0,069±0,008

Veriler ortalama±standart hata olarak verilmiştir (n: 9). K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu



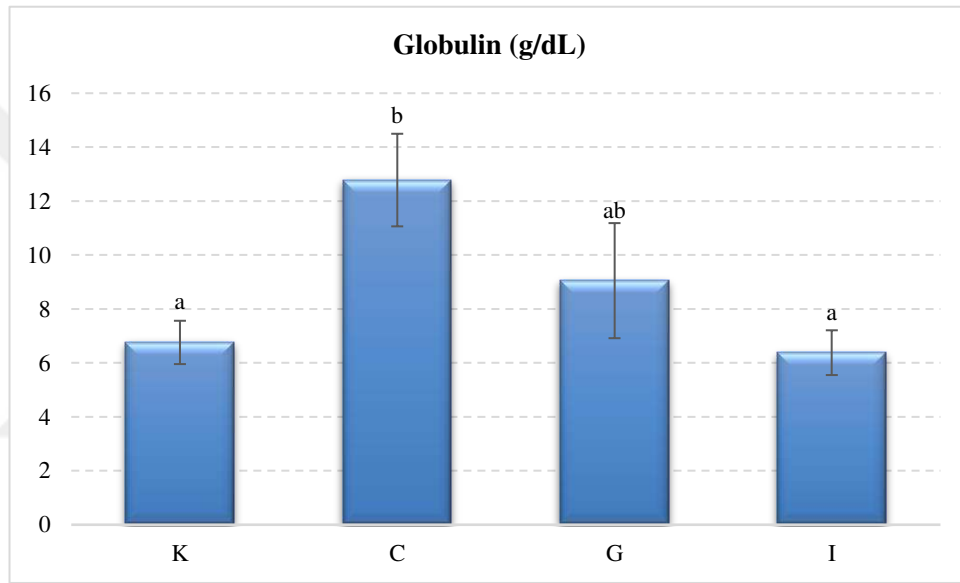
Şekil 4.9 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama albümin değerlerine ilişkin grafik (Hata çubukları: Standart hata, n: 9, K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu)

Dar pençeli kerevitlerin 96 saatlik pestisit maruziyeti sonrasında tespit edilen globulin değerleri Tablo 4.15 ve Şekil 4.10'da verildiği gibidir. Analiz sonuçlarına göre cyprodinil etken maddeli pestisite maruz bırakılan kerevitlerin globulin değerleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Cyprodinil grubu aynı zamanda indoxacarb grubuna kıyasla da yüksek globulin değerleri sergilemiş ($p<0,05$), diğer grupların birbirleri arasında istatistiki anlam taşıyan fark gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.15 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama globulin değerleri

Gruplar	Globulin (g/dL)
K	6,76±0,80 ^a
C	12,78±1,72 ^b
G	9,05±2,13 ^{ab}
I	6,38±0,83 ^a

Veriler ortalama±standart hata olarak verilmiştir (n: 9). K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu. Aynı sütundaki farklı harfler gruplar arasındaki istatistiki farkı belirtir (p<0,05)



Şekil 4.10 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama globulin değerlerine ilişkin grafik (Hata çubukları: Standart hata, n: 9, K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu, sütunlar üzerindeki farklı harfler gruplar arasındaki istatistiki farkı belirtir, p<0,05)

4.2.2 Lipit Peroksidasyonu ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri

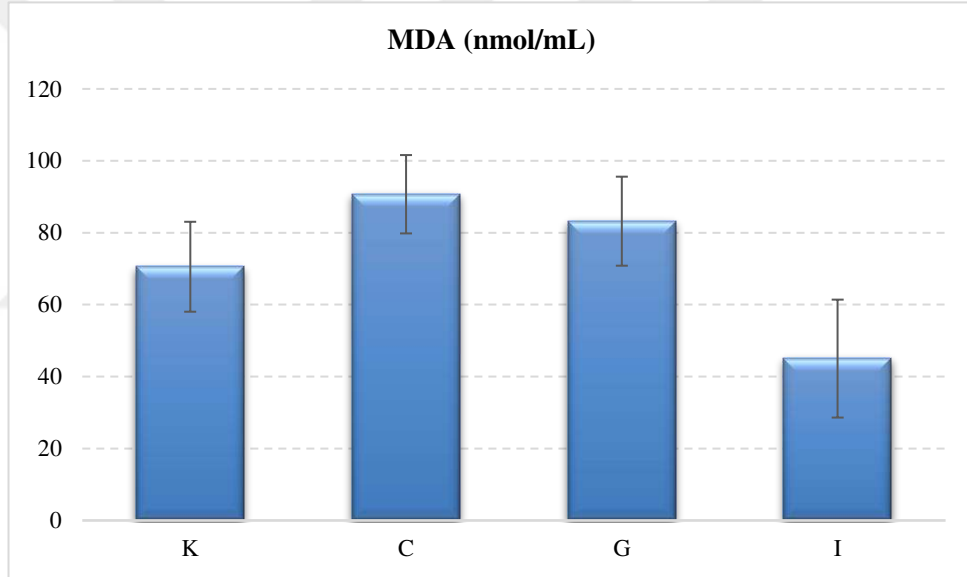
Cyprodinil, glyphosate isopropilamin tuzu ve indoxacarb etken maddeli pestisitlerin subletal konsantrasyonlarına 96 saatlik süreyle maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerin lipit peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktiviteleri hepatopankreas süpernatantından belirlenmiştir. Lipit peroksidasyonu, malondialdehit (MDA) düzeyi tespit edilerek değerlendirilmiştir. Buna göre dar pençeli kerevitlerin MDA düzeylerine ilişkin bulgular Tablo 4.16 ve Şekil 4.11’de sunulmuştur. Elde edilen

sonuçlara göre tüm grupların MDA seviyeleri birbirine benzer olarak bulunmuştur ($p>0,05$).

Tablo 4.16 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama malondialdehit (MDA) değerleri

Gruplar	MDA (nmol/mL)
K	70,55±12,50
C	90,71±10,89
G	83,22±12,38
I	45,01±16,40

Veriler ortalama±standart hata olarak verilmiştir (n: 9). K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu



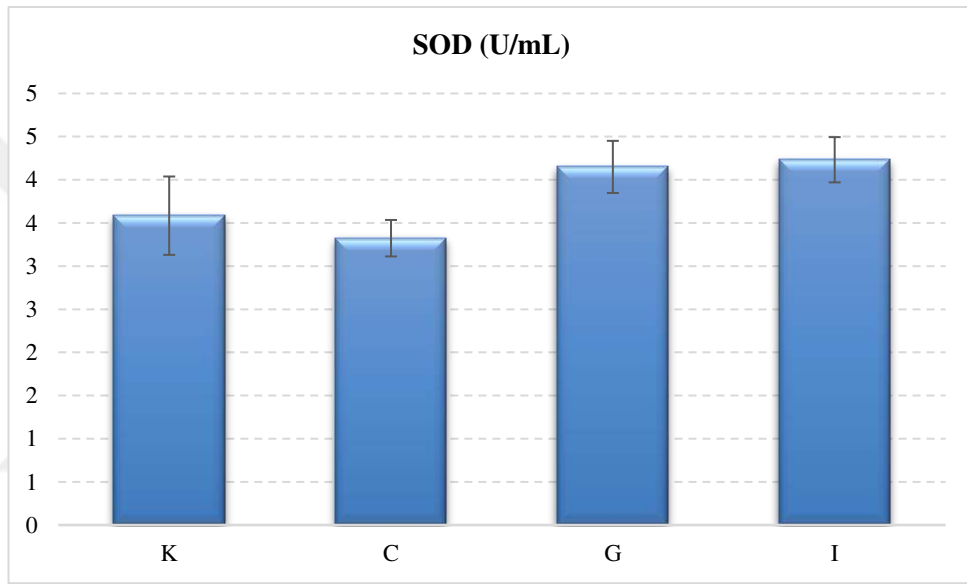
Şekil 4.11 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama MDA değerlerine ilişkin grafik (Hata çubukları: Standart hata, n: 9, K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu)

Çalışma kapsamında incelenen antioksidan parametreleri arasından süperoksit dismutaz (SOD) bulgularına ilişkin veriler Tablo 4.17 ve Şekil 4.12’de aktarılmıştır. Elde edilen verilere göre SOD bakımından gruplar arasında istatistiki anlam ifade eden bir fark tespit edilememiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.17 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama süperoksit dismutaz (SOD) değerleri

Gruplar	SOD (U/mL)
K	3,58±0,45
C	3,32±0,21
G	4,15±0,30
I	4,23±0,26

Veriler ortalama±standart hata olarak verilmiştir (n: 9). K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu



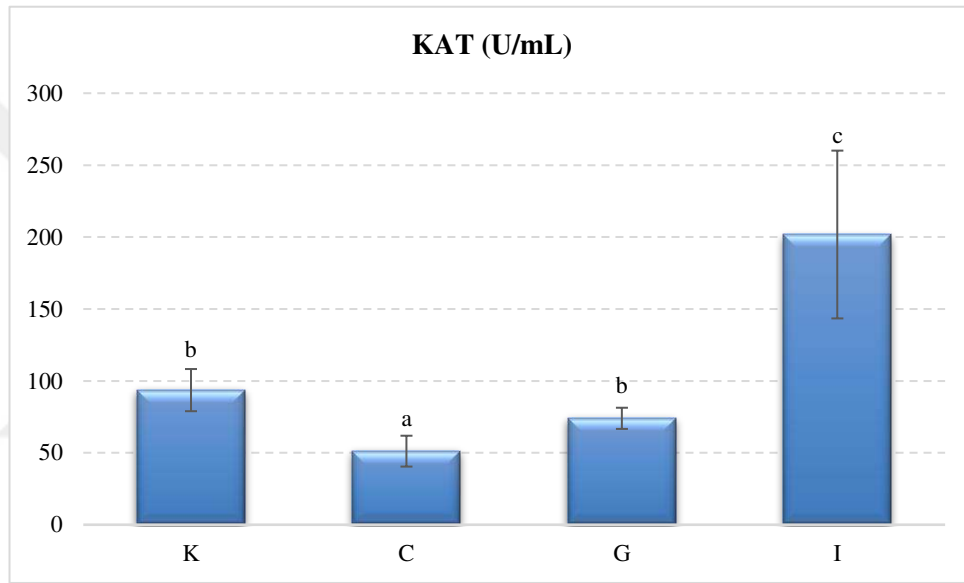
Şekil 4.12 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama süperoksit dismutaz (SOD) değerlerine ilişkin grafik (Hata çubukları: Standart hata, n: 9, K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu)

Subletal pestisit maruziyetinin 96. saati sonunda dar pençeli kerevitlerin katalaz (KAT) düzeyleri Tablo 4.18 ve Şekil 4.13’de verildiği gibidir. KAT bakımından gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlı farklar tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre cyprodinil grubunun KAT seviyesi kontrol grubundan düşük bulunurken ($p<0,05$), indoxacarb grubunun KAT seviyesi kontrol grubuna göre daha yüksek seyretmiştir ($p<0,05$). Glyphosate isopropilamin tuzu grubundaki KAT seviyeleri ise kontrol grubu ile benzerlik göstermiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.18 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama katalaz (KAT) değerleri

Gruplar	KAT (U/mL)
K	93,59±14,66 ^b
C	51,17±10,73 ^a
G	73,99±7,36 ^b
I	201,76±58,32 ^c

Veriler ortalama±standart hata olarak verilmiştir (n: 9). K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu. Aynı sütundaki farklı harfler gruplar arasındaki istatistiki farkı belirtir (p<0,05)



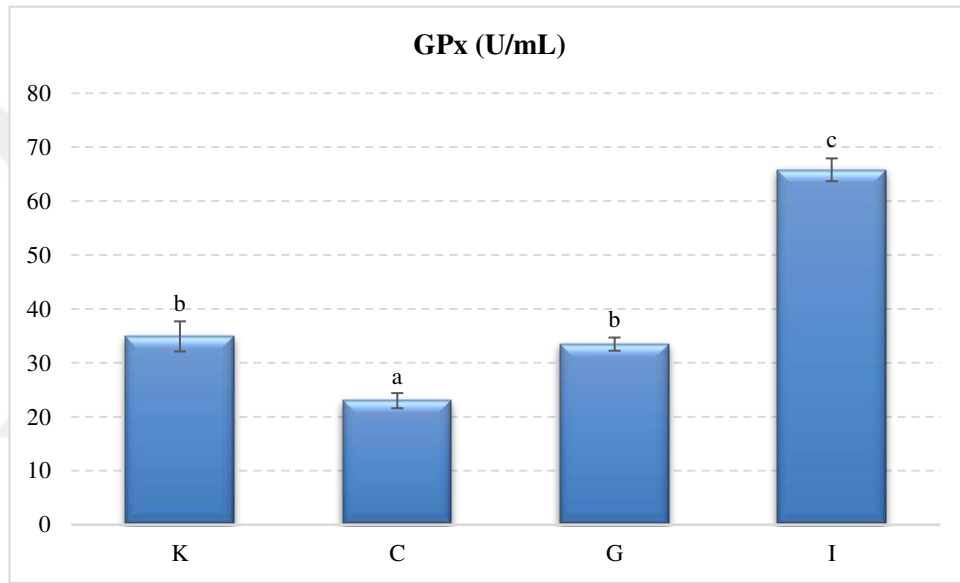
Şekil 4.13 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama katalaz (KAT) değerlerine ilişkin grafik (Hata çubukları: Standart hata, n: 9, K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu, sütunlar üzerindeki farklı harfler gruplar arasındaki istatistiki farkı belirtir, p<0,05)

Dar pençeli kerevitlerin 96 saatlik subletal pestisit maruziyeti sonrası hepatopankreas süpernatantından belirlenen bir diğer antioksidan enzim olan glutatyon peroksidaz (GPx) bulguları Tablo 4.19 ve Şekil 4.14’de sunulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre cyprodinil etken maddeli pestisite maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerin GPx düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma (p<0,05), indoxacarb etken maddeli pestisite maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerin GPx seviyelerinde ise yine kontrol grubuna oranla anlamlı bir artış (p<0,05) tespit edilmiştir. Glyphosate isopropilamin tuzu etken maddeli pestisite maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerde ise GPx düzeyleri kontrol grubu ile benzer değerler göstermiştir (p>0,05).

Tablo 4.19 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama glutatyon peroksidaz (GPx) değerleri

Gruplar	GPx (U/mL)
K	34,91±2,79 ^b
C	23,00±1,40 ^a
G	33,48±1,23 ^b
I	65,80±2,12 ^c

Veriler ortalama±standart hata olarak verilmiştir (n: 9). K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu. Aynı sütundaki farklı harfler gruplar arasındaki istatistiki farkı belirtir (p<0,05)



Şekil 4.14 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) ortalama glutatyon peroksidaz (GPx) değerlerine ilişkin grafik (Hata çubukları: Standart hata, n: 9, K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu, sütunlar üzerindeki farklı harfler gruplar arasındaki istatistiki farkı belirtir, p<0,05)

4.2.3 Histolojik Değişimler

Subletal konsantrasyonlarda pestisitlere maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerden 96 saatin sonunda alınan hepatopankreas dokularındaki değişimlere ilişkin yarı nicel değerlendirme sonuçları Tablo 4.20’de sunulmuştur.

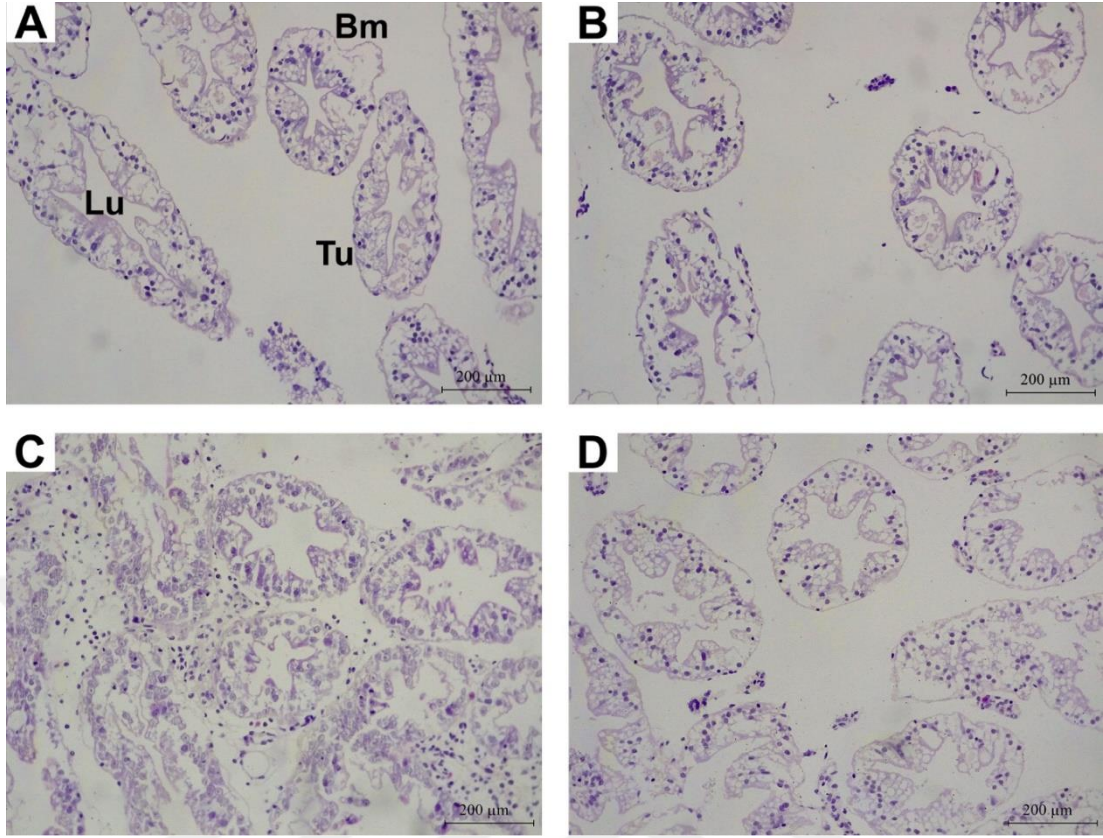
Tablo 4.20 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) hepatopankreas dokularındaki histopatolojik değişimlerin yarı nicel değerlendirmesi

	K	C	G	I
Granülositik hemosit agregasyonu	0	3	1	1
Düzensiz hepatopankreas hücreleri	0	3	1	3
Belirsiz hücre sınırları	0	2	2	3
Hücrel nekroz	0	2	1	2
Hepatopankreasın vakuolizasyonu	0	2	2	4
Tübül lümeninin genişlemesi	0	2	1	3
Tübüllerin dejenerasyonu	0	2	1	2
Toplam skor	0	16	9	18

K: Kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu (n: 9)

4.2.3.1 Kontrol grubu bulguları

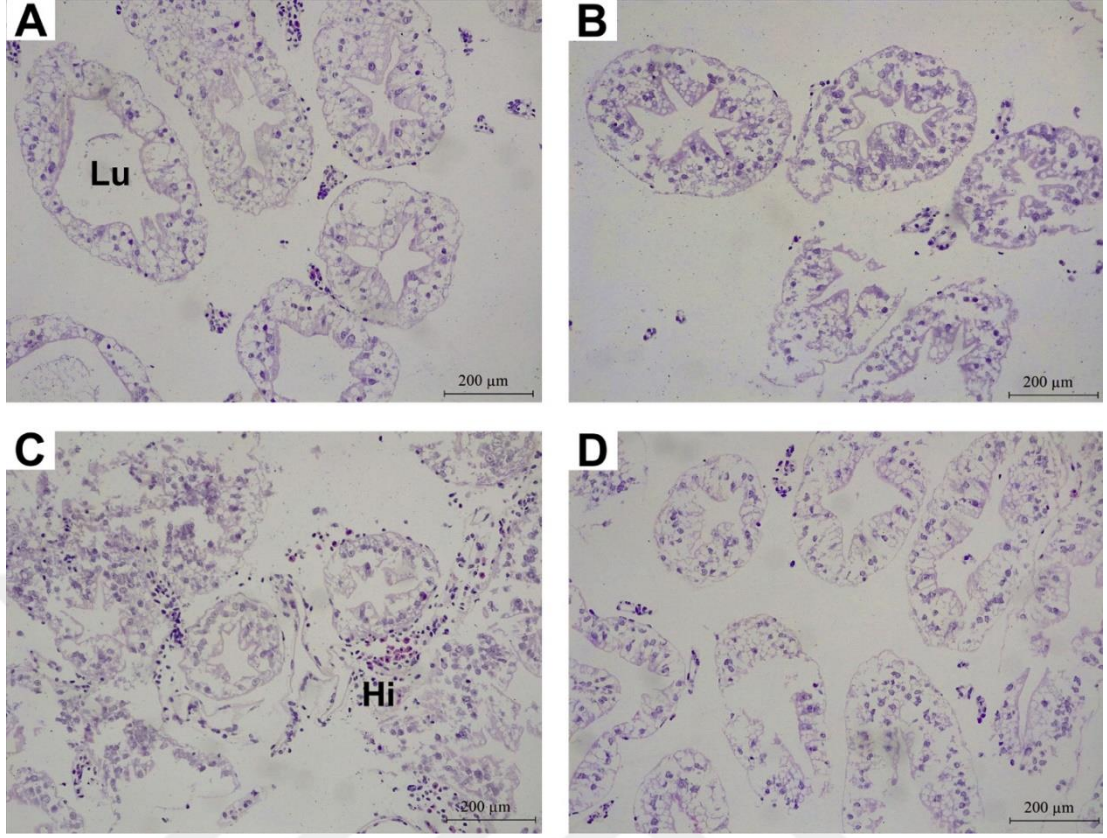
Kontrol grubundan alınan hepatopankreasın histolojik kesitleri normal olarak gözlenmiştir (Şekil 4.15). Hepatopankreatik tübül (Tu) boyunca düzenlenmiş psödostratifiye epitel hücrelerinden oluşan bir yapıda olduğu görülmüştür. Normal hepatik tübülde, hepatopankreas hücreleri iyi düzenlenmiş ve dairesel yapıda olan çekirdekleri hücre tabanında yer almıştır (Şekil 4.15A). Bazal membranın (Bm) yapısal bütünlüğe sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.15B). R-hücreli kompozisyonu ile normal hepatopankreatik yapıda olduğu müşahade edilmiştir. Temiz ve berrak tübül lümeni (Lu) yıldız şeklinde, normal yapıda gözlenmiştir. Tübüler yapıların birbirlerinden gevşek bağ dokusu tarafından ayrıldığı saptanmıştır (Şekil 4.15C).



Şekil 4.15 Subletal akut toksikoloji testinden sonra kontrol grubu dar pençeli kerevitlerinin (*Pontastacus leptodactylus*) hepatopankreas doku kesitlerinin normal histolojik görünümü (Tu: Tübül, Bm: Bazal membran, Lu: Lümen, H&E, Bar = 200 µm, A, B, C, D: histolojik kesitlerin farklı görüntüleri)

4.2.3.2 Cyprodinil grubu bulguları

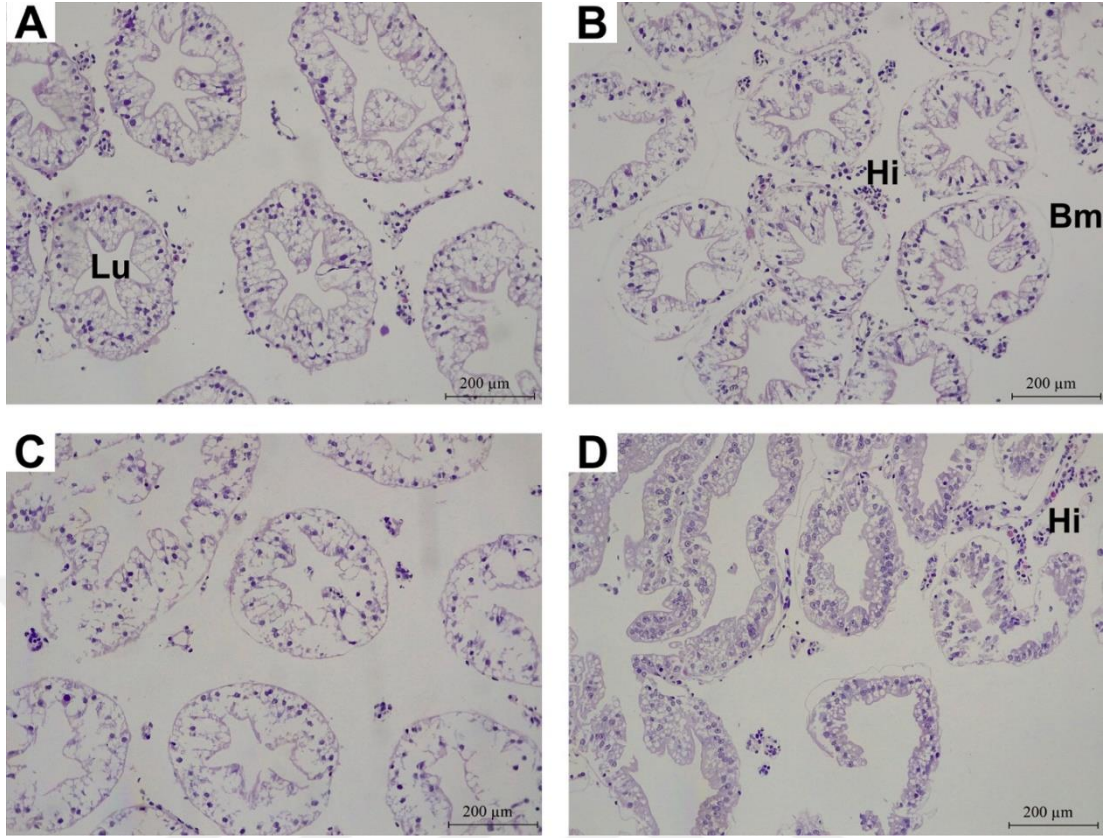
Cyprodinil etken maddeli pestisite maruz bırakılan dar pençeli kerevitlere ait hepatopankreas kesitlerinde orta şiddette dejenerasyon gözlenmiştir (Şekil 4.16). Epitel hücrelerinde düzensiz bir dizilim, belirsiz hücresel sınırlar (Şekil 4.16B) ve hücresel bütünlüğün bozulduğu (Şekil 4.16C) saptanmıştır. Epitel hücrelerinde hafif vakuol oluşumu tespit edilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla hem tübül yapısının hem de lümen yapısal bütünlüğünün orta şiddetle bozulduğu gözlenirken, bazı tübüllerde yıldız şeklindeki lümen yapısının bozularak belirgin şekilde genişlediği (Şekil 4.16A) belirlenmiştir. Yoğun bir şekilde tübüller arası interstisyel sinüslerinde granülositik hemosit agregasyonu saptanmıştır (Şekil 4.16C).



Şekil 4.16 Subletal akut toksikoloji testinden sonra cyprodinil grubu dar pençeli kerevitlerinin (*Pontastacus leptodactylus*) hepatopankreas doku kesitlerinin histolojik görünümü (Lu: Lümen, Hi: Hemositik infiltrasyon, H&E, Bar = 200 µm, A, B, C, D: histolojik kesitlerin farklı görüntüleri)

4.2.3.3 Glyphosate isopropilamin tuzu grubu bulguları

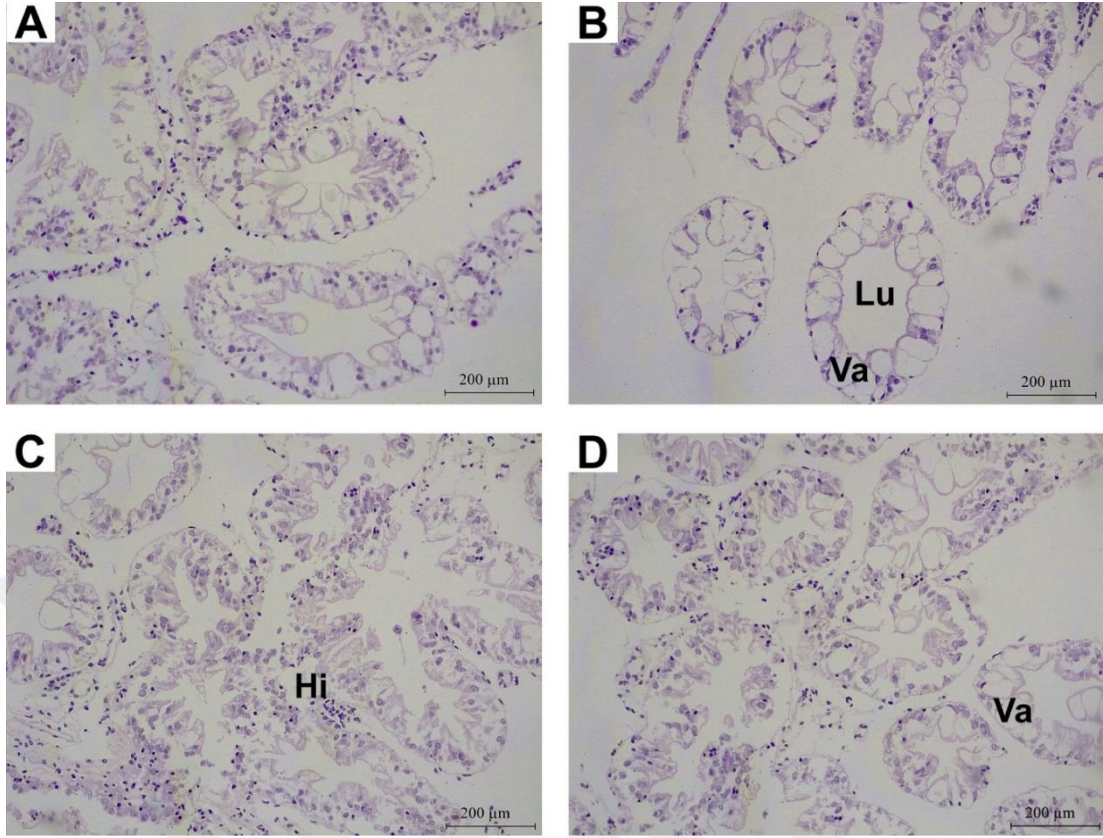
Glyphosate isopropilamin tuzu grubuna ait hepatopankreasın histolojik kesitlerinde hafif dejeneratif özellikler fark edilmiştir (Şekil 4.17). Tübül duvarını oluşturan epitelde hem düzensiz hücresel dizilim hem de hücresel bütünlüğün bozulduğu görülmüştür (Şekil 4.17C). Psödostratifiye epitel hücrelerinde hafif vakuol oluşumu (Şekil 4.17A, B) saptanmıştır. Tübül lümeni hafif genişlemekle birlikte belirgin yıldız şeklindeki görünümünü korumuştur (Şekil 4.17). Tübüllerin arasında hafif granülositik hemosit agregasyonu saptanmıştır (Şekil 4.17B, D).



Şekil 4.17 Subletal akut toksikoloji testinden sonra glyphosate isopropilamin tuzu grubu dar pençeli kerevitlerinin (*Pontastacus leptodactylus*) hepatopankreas doku kesitlerinin histolojik görünümü (Bm: Bazal membran, Hi: Hemositik infiltrasyon, Lu: Lümen, H&E, Bar = 200 µm, A, B, C, D: histolojik kesitlerin farklı görüntüleri)

4.2.3.4 Indoxacarb grubu bulguları

Indoxacarb etken maddeli pestisite maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerden alınan hepatopankreasın histolojik kesitlerinde şiddetli dejenerasyon gözlenmiştir (Şekil 4.18). Tübül duvarını oluşturan epitel hücrelerinde düzensiz bir dizilim, hücresel sınırların belirsiz (Şekil 4.18A) ve hücresel bütünlüğün bozulduğu görülmüştür. Ayrıca hücresel nekroz gibi dejeneratif özelliklerin mevcut olduğu saptanmıştır. Bazal membran yapısının yer yer dağıldığı fark edilmiştir (Şekil 4.18B). Tübülün psödostratifiye epitel hücrelerinde şiddetli vakuol (Va) oluşumu (Şekil 4.18B) tespit edilmiştir. Tübül lümeni temiz ve berrak olmakla birlikte belirgin bir şekilde genişlemiştir. Tübüllerinin interstisyel sinüslerinde hemositik infiltrasyon (Hi) saptanmıştır (Şekil 4.18C, D).



Şekil 4.18 Subletal akut toksikoloji testinden sonra indoxacarb grubu dar pençeli kerevitlerinin (*Pontastacus leptodactylus*) hepatopankreas doku kesitlerinin histolojik görünümü (Lu: Lümen, Hi: Hemositik infiltrasyon, Va: Vakuol, H&E, Bar = 200 µm, A, B, C, D: histolojik kesitlerin farklı görüntüleri)

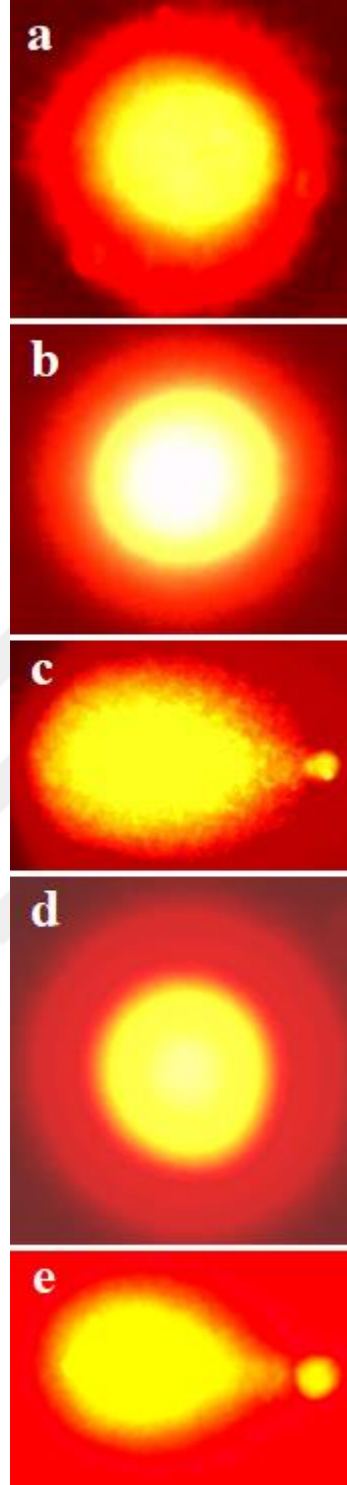
4.2.4 Genotoksik Etki

Pestisitlerin subletal konsantrasyonlarının dar pençeli kerevitlerde meydana getirdiği DNA hasarı tek hücre jel elektroforezi (Comet Assay) yöntemi ile belirlenmiştir. Elde edilen veriler Tablo 4.21 ve Şekil 4.19’da sunulmuştur. Bu sonuçlara göre cyprodinil ve indoxacarb etken maddeli pestisit formülasyonuna maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerin bulgularında negatif kontrol grubu ile farklılık görülmezken ($p>0,05$) glyphosate isopropilamin tuzu etken maddeli pestisite maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerde pozitif kontrol grubu (hidrojen peroksit) ile benzer DNA hasarı miktarı belirlenmiştir ($p>0,05$). Pozitif kontrol grubu ve glyphosate isopropilamin tuzu ile negatif kontrol, cyprodinil ve indoxacarb grupları arasındaki farkın ise istatistiki açıdan anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Tablo 4.21 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) DNA hasarı düzeyleri

Gruplar	Baş % DNA	Kuyruk % DNA	Kuyruk Uzunluğu	Kuyruk Momenti
PK (H ₂ O ₂)	9,42±3,50 ^a	90,58±3,50 ^b	150,51±29,44	136,33
NK	94,30±1,37 ^b	5,70±1,37 ^a	30,22±1,18	1,72
C	90,33±2,11 ^b	9,67±2,11 ^a	43,41±2,28	4,20
G	4,32±2,00 ^a	95,68±2,00 ^b	190,78±25,14	182,54
I	94,02±1,28 ^b	5,98±1,28 ^a	45,16±1,98	2,70

Veriler ortalama±standart hata olarak verilmiştir (n: 9). PK: Pozitif kontrol grubu, NK: Negatif kontrol grubu, C: Cyprodinil grubu, G: Glyphosate isopropilamin tuzu grubu, I: Indoxacarb grubu. Aynı sütundaki farklı harfler gruplar arasındaki istatistiki farkı belirtir (p<0,05)



Şekil 4.19 Subletal akut toksikoloji testinden sonra dar pençeli kerevitlerin (*Pontastacus leptodactylus*) DNA göçünü temsil eden fotoğraflar (a: Negatif kontrol, b: Cyprodinil, c: Glyphosate isopropilamin tuzu, d: Indoxacarb, e: Pozitif kontrol = H₂O₂)

5. TARTIŞMA

Pestisitler genel olarak zirai faaliyetlerde hastalık ve zararlılarla mücadelede kullanılsa da doğaya karıştığında hedef dışı organizmalar için risk teşkil etmektedir (Katip, 2019). Bu bağlamda pestisitlerin çevresel risklerini en aza indirmek için ilgili yerel ve uluslararası kuruluşlar (T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, ABD Çevre Koruma Ajansı, Ekonomik Kalkınma ve İş Birliği Örgütü vb.) pestisit kullanımı ile ilgili düzenleme ve yönetmelikleri yürütmektedir. Ayrıca pestisitlerin olası risklerini tespit etmek için hedef dışı organizmalara olan etkileri de birçok bilimsel araştırmaya konu olmuştur (Stanley vd., 2016). Bu araştırmalar sayesinde az önce bahsedilen yetkili kuruluşlar zararlı olduğu tespit edilen pestisitlerin kullanımı ile ilgili gerekli kararları almaktadırlar. Bu nedenle; doğal süreçler, tarımsal faaliyetler veya bilinçsiz kullanım sonucu suya karışabilen (Altıkat vd., 2009; Demircan ve Yılmaz, 2005) pestisitlerin sucul organizmalara teşkil ettiği riski ortaya koymak yüksek önem arz etmektedir. Bu araştırmada cyprodinil, glyphosate isopropilamin tuzu ve indoxacarb etken maddeli ticari pestisit formülasyonlarının dar pençeli kerevitteki (*Pontastacus leptodactylus*) toksik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre çalışmada kullanılan cyprodinil, glyphosate isopropilamin tuzu ve indoxacarb içeren pestisit formülasyonlarının LC₅₀ değerleri sırasıyla 18,402; 59,715 ve 13,133 mg/L olarak hesaplanmıştır. Bu değerler Banaee (2012)'nin 96 saatlik LC₅₀ değerleri için oluşturduğu toksisite sınıflandırmasına göre (10-100 mg/L: Az toksik; 1-10 mg/L: Orta toksik; 0,1-1 mg/L: Yüksek toksik; 0,1 mg/L'den az: Aşırı toksik) az toksik grubunda yer almaktadır. Buradan bu pestisitlerin dar pençeli kerevitlerde toksisite meydana getirebilmesi için suda çok yüksek konsantrasyonlarda bulunması gerektiği anlaşılmaktadır. Benzer şekilde Velisek vd. (2013) atrazin, heksazinon, metribuzin, prometryn, simazin ve terbutryn pestisitlerinin sinyal kerevitinde (*Pasifastacus leniusculus*) 96 saatlik LC₅₀ değerlerinin 12,1 ile 77,9 mg/L aralığında değiştiğini tespit etmişlerdir. Bunun aksine bir başka çalışmada pymetrozine pestisitinin *Procambarus clarkii*'de yüksek derecede toksik olduğu (96 saatlik LC₅₀: 0,479 mg/L) bildirilmiştir (Yu vd., 2018). Literatürde bu tez çalışmasında kullanılan pestisitlerin kerevitlerdeki etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlanılmamış olmasına rağmen glyphosate pestisitinin *P. leptodactylus*'da toksisiteni inceleyen bir araştırma mevcuttur.

Bu araştırmaya (Banaee vd., 2019) göre glyphosate pestisitinin 96 saatlik LC₅₀ değeri 7,83 mg/L olarak bulunmuştur. Su sıcaklığı, pH, oksijen, kerevitlerin boy, ağırlık ve cinsiyetleri toksisiteyi etkileyebilecek faktörler olsa da bu çalışma ile Banaee vd. (2019)'nin çalışmasında kullanılan kerevitlerin boy ve ağırlıkları ile su koşullarının yakın değerlere sahip olduğu müşahade edilmiştir. Bununla birlikte deney düzeneğinde bu çelişkili sonuçları açıklayabilecek bazı farklılıklar tespit edilmiştir. Bahsi geçen çalışmada araştırmacılar her bir akvaryum için 10 adet kereviti 25 L su içerisinde barındırmışlardır. Mevcut tez çalışmasında ise 10 kerevit için 80 L su kullanılmıştır. Ayrıca bu çalışmada kerevitlerin saklanma ihtiyaçlarını gidermek için PVC borular kullanılmıştır. Banaee vd. (2019)'nin çalışmasında ise böyle bir bilgiye yer verilmemiştir. Bu nedenlerden dolayı Banaee vd. (2019)'nin araştırmasındaki yüksek stok yoğunluğunun ve muhtemelen kerevitlerin saklanamayışının toksisite toleransını düşürmüş olabileceği düşünülmektedir. Nitekim *P. leptodactylus*'da yüksek stok yoğunluğunun büyümeyi ve hayatta kalma oranını azalttığı ve agresif davranışa neden olduğu bildirilmiştir (Mazlum, 2007; Mazlum ve Uzun, 2022). Ayrıca glyphosate (C₃H₈NO₅P) ile glyphosate isopropilamin tuzunun (C₆H₁₇N₂O₅P) farklı moleküller olduğunu unutmamak gerekir. Bu da atomik düzeyde farklı ağırlıklara ve suda farklı çözünürlüklere sahip oldukları anlamına gelmektedir (Hanson, 2017). İlgili mekanizmaları bu çalışma kapsamında yorumlanamayacak olsa da bu farklılık glyphosate çeşitlerinin kerevit bünyesine alımını ve dolayısıyla toksisitesini etkileyebilir. Bunlara ek olarak mevcut araştırmada Eğirdir Gölü'nden avlanan dar pençeli kerevit bireyleri kullanıldığı için, bu gölün çalışmada kullanılan pestisitlerle kontamine olma ihtimali de göz önüne alındığında, denek olarak kullanılan bireylerin cyprodinil, glyphosate isopropilamin tuzu ve indoxacarb karşı tolerans geliştirmiş olması muhtemeldir. Bu unsur, mevzubahis pestisitlerle daha önce hiç temasa geçmemiş bireyler kullanarak çalışmanın tamamen kontrollü şartlarda yapılmasını kısıtlayan bir durumdur. Bu nedenle ilgili pestisitlerin dar pençeli kerevitte *de facto* LC₅₀ değerlerinin bu araştırmada belirlenen değerlerden daha düşük olabileceği dikkate alınmalıdır.

Subletal toksisite testi toksikolojide etkin bir araçtır çünkü kirleticilerin organizmaları ani ölümün ötesinde nasıl etkilediğini anlamamıza yardımcı olur. Bu araştırmada dar pençeli kerevitlerde cyprodinil, glyphosate isopropilamin tuzu ve indoxacarb etken

maddeli ticari pestisit formülasyonlarının subletal etkilerinin belirlenmesi için çalışmada elde edilen LC₅₀ değerlerinin (sırasıyla 18,402; 59,715 ve 13,133 mg/L) %20'si (sırasıyla 3,68; 11,94 ve 2,63 mg/L) kullanılmış ve dar pençeli kerevitler bu konsantrasyonlara 96 saat süreyle yarı-statik düzenekte maruz bırakılmıştır. Nitekim her ne kadar farklı araştırmalarda çeşitli subletal konsantrasyonlar kullanılsa da (%10, %20, %40 gibi) literatürde subletal toksikoloji deneyi için LC₅₀ değerinin %10 veya daha fazlasının kullanılabileceği önerilmiştir (Banaee, 2012). Subletal toksikoloji denemesinin bitiminde incelenen hemolenf biyokimyasal parametrelerinden alanin aminotransferaz (ALT) birçok ökaryot canlıda özellikle karaciğerde bulunan, aspartatın ve alfa ketoglutaratın oksaloasetat ve glutamata dönüşümünü katalize eden bir transaminaz enzimidir (Washington ve Van Hoosier, 2012). Kerevitlerde de aynı işlevi gören bu enzimin (Orlický vd., 1977) hemolenf konsantrasyonundaki değişiklikler, hepatopankreas sorunlarına işaret edebildiğinden ALT düzeyleri benzer çalışmalarda biyobelirteç olarak tayin edilmektedir (Banaee vd., 2019; Chabera vd., 2021). Bu çalışmada hiçbir pestisit grubundaki dar pençeli kerevitlerin ALT değerleri kontrol grubuna göre değişim göstermemiştir. Bu, araştırmada kullanılan pestisit formülasyonlarının *P. leptodactylus*'un ALT değerlerini etkilemediğine işaret etmektedir. Bu sonuçlara benzer şekilde atrazin pestisitine 7 ve 14 gün süreyle maruz bırakılan kerevitlerin (*Cherax destructor*) ALT düzeylerinin kontrol grubu ile farklı bulunmadığı bildirilmiştir (Stara vd., 2018). Bunun aksine chlorpyrifos ve glyphosate pestisitlerinin subletal dozlarına maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerde (*P. leptodactylus*) ALT seviyelerinin azaldığı rapor edilmiştir. Bir başka araştırmada chloridazon maruziyetinin sinyal kerevitinde (*Pacifastacus leniusculus*) ALT'yi arttırdığı ortaya konulmuştur (Chabera vd., 2019).

Bu araştırmada incelenen bir diğer biyokimyasal parametre olan aspartat aminotransferaz (AST) da ALT'ye benzer şekilde transaminasyon sürecinde rol alan ve hemolenfteki konsantrasyonu ile hepatopankreas hasar belirteci olarak kullanılan bir enzimdir (Yang vd., 2022). AST düzeylerinin normalin üzerine çıkması hepatopankreatik hücrelerde hasara işaret edebilir (Banaee vd., 2019; Gholamhosseini vd., 2023). Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre subletal pestisit konsantrasyonlarına maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerin AST düzeyleri kontrol grubuna kıyasla farklılık göstermemiştir. Buna karşın Banaee vd. (2019) chlorpyrifos

ve glyphosate maruziyeti sonucu *P. leptodactylus*'da AST aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada belirlenen verilere benzer şekilde ise atrazin pestisitine maruz bırakılan kerevitlerin (*C. destructor*) AST düzeyleri kontrol grubuna kıyasla değişim göstermemiştir (Stara vd., 2018). Aynı şekilde s-metolachlor maruziyeti (4,2 µg/L) sonucu mermer kerevitinde (*Procambarus virginialis*) AST düzeyleri değişim göstermezken s-metolachlor pestisitinin metaboliti olan metolachlor OA'ya ve 42 µg/L s-metolachlor pestisitine maruz bırakılan bireylerin AST düzeyleri yükselmiştir (Stara vd., 2019).

Alkalın fosfataz (ALP), birçok farklı biyolojik role sahip başlıca hücresel membran enzimlerinden birisidir. ALP fosfat hidrolizinde önemli bir rol oynar (Hatami vd., 2019). Aynı zamanda sert dokularda mineralizasyonda görev alır (Golub ve Boesze-Battaglia, 2007). Biyolojik sistemlerde yaygın kullanılan bir stres biyobelirtecidir ve membran hasarına işaret edebilir (Banaee vd., 2014, 2019). Bu çalışmada glyphosate isopropilamin tuzu ve indoxacarb etken maddeli pestisitlere maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerin ALP değerlerinin kontrol grubu ile benzer düzeylerde seyrettiği tespit edilmiştir. Buna karşın cyprodinil pestisitine maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerin ALP değerleri kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde artış göstermiştir. Bu bulgu, araştırmada kullanılan cyprodinil etken maddeli pestisit formülasyonunun *P. leptodactylus*'da hücre hasarına ve/veya strese neden olabileceğine işaret etmektedir. Bu sonuçlara benzer şekilde atrazin pestisitine maruz bırakılan *C. destructor*'un ALP düzeyleri artış göstermiştir (Stara vd., 2018). Başka bir araştırmada endosülfan pestisitine 15 gün süreyle maruz kalan kerevitlerin (*P. leptodactylus*) ALP değerleri farklılık göstermezken 30 gün süreyle maruz kalındığında ALP seviyelerinin kontrol grubuna nazaran yükseldiği rapor edilmiştir (Banaee ve Ahmadi, 2011). Bu sonuçların aksine Stara vd. (2019) s-metolachlor pestisitine maruz bırakılan kerevitlerin (*Procambarus virginialis*) ALP seviyelerinin değişmediğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda subletal toksisite testi sonucunda incelenen bir diğer biyokimyasal parametre olan laktat dehidrogenaz (LDH), bitkiler ve hayvanlar da dahil olmak üzere birçok canlıda bulunan anaerobik metabolik yolun (hücresel solunum) önemli bir enzimidir. Bu enzimin temel işlevi NAD⁺'nın NADH'a indirgenmesi suretiyle laktatın

pirüvata dönüşümünü (glikoliz) katalize etmektir (Farhana ve Lappin, 2023). Canlılarda doku hasarının ve hücrel hipoksinin bir belirteci olarak kullanılmaktadır (Banaee vd., 2019; Farhana ve Lappin, 2023). Bu araştırmada LDH değerleri tüm deneme gruplarında kontrol grubu ile benzer seyretmiştir. Bu bulgu, kullanılan pestisitlerin dar pençeli kerevitte LDH düzeyini etkilemediğini göstermektedir. Bu sonuçlara benzer şekilde Stara vd. (2018) atrazine maruz bırakılan kerevitlerin (*C. destructor*) LDH değerlerinin değişmediğini bildirmiştir. Yine mermer kerevitinin (*Procambarus virginialis*) LDH düzeyleri s-metolachlor pestisiti maruziyeti sonrası kontrol grubuna kıyasla değişim göstermemiştir (Stara vd., 2019). Bu sonuçlara zıt olarak endosülfan (Banaee ve Ahmadi, 2011), chlorpyrifos ve glyphosate (Banaee vd., 2019) maruziyeti sonucunda kerevitlerin (*P. leptodactylus*) LDH düzeylerinde artış rapor edilmiştir.

Glikoz, basit bir şeker molekülü olup birçok hücre için birincil enerji kaynağıdır ve hem oksijenli hem de oksijensiz solunum için elzemdir (Hantzidiamantis vd., 2022). Toksikolojik deneylerde hemolenfteki glikoz miktarı, test edilen kimyasalın enerji metabolizmasını etkileyip etkilemediğini belirlemek ve kerevitin genel sağlık durumuna ilişkin fikir edinebilmek amacıyla tayin edilmektedir (Banaee vd., 2019). Bu araştırmada elde edilen sonuçlara göre deneme grupları ve kontrol grubu arasında glikoz bakımından bir farklılık gözlenmemiştir. Bu verilerle uyumlu olarak s-metolachlor pestisitine maruz bırakılan kerevitlerin (*Procambarus virginialis*) glikoz seviyeleri değişiklik göstermemiştir (Stara vd. 2019). Bu sonuçların aksine chlorpyrifos ve glyphosate pestisitlerine maruz bırakılan *P. leptodactylus*'un hemolenf glikoz seviyeleri kontrol grubuna kıyasla yükselmiştir (Banaee vd., 2019). Bir başka çalışmada atrazin pestisiti maruziyeti *C. destructor*'un hemolenf glikoz düzeylerinin artmasına neden olmuştur (Stara vd., 2018).

Trigliseritler gliserolün yağ asidi esterleri olup besinsel yağın ve hayvanların yağ depolarının ana lipit bileşenini teşkil ederler (Cox ve García-Palmieri, 1990). Glikoz tayininde olduğu gibi trigliserit düzeyinin belirlenmesi test edilen kimyasalın lipit ve enerji metabolizmasını etkileyip etkilemediği ile hepatopankreas sağlığı ve organizmanın genel kondisyonu hakkında fikir verir (Banaee vd., 2019; Olsvik vd., 2015). Bu tez çalışmasında gruplar arasında varyasyon gözlense de cyprodinil,

glyphosate isopropilamin tuzu ve indoxacarb etken maddeli pestisitlere maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerin trigliserit değerlerinde istatistiki açıdan anlamlı bir fark belirlenmemiştir. Glikoz sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde, kullanılan pestisitlerin dar pençeli kerevitlerin enerji metabolizmasına etki etmediği sonucuna varılmıştır. Bu sonuçların aksine Banaee vd. (2019) chlorpyrifos ve glyphosate pestisitine maruz bırakılan kerevitlerin (*P. leptodactylus*) hemolenf trigliserit düzeylerinin artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacıların chlorpyrifos ve glyphosate pestisitlerinin sinerjik etkilerini araştırdıkları başka bir çalışmada (Banaee vd., 2020) yine *P. leptodactylus*'da trigliserit düzeyleri pestisit konsantrasyonları arttıkça yükselmiştir. Bunlara ek olarak Abd El-Atti ve Saied (2018) spinosad pestisitine maruz bırakılan *Procambarus clarkii*'nin dişi bireylerinin hemolenf trigliserit düzeylerinin arttığını belirlerken erkek kerevitlerde değişim olmadığını rapor etmişlerdir.

Kolesterol, birçok organizmada kanda yer aldığı gibi kerevitte de hemolenfte bulunan, hücrelerin normal işlevlerini yerine getirmesinde önemli bir rol oynayan lipofilik bir moleküldür (Huff vd., 2023; Safaeian vd., 2020). Örneğin hücre membranının yapısında bulunur ve hücrenin akışkanlığını düzenler (Huff vd., 2023). Aynı zamanda eklem bacaklı kabuklularda kabuk değiştirme ve üreme fizyolojisinde de görev alır (Sin vd., 2015). Bu özellikleriyle toksikoloji çalışmalarında hücre ve doku hasarının belirlenmesinde ve genel fizyolojik durumu değerlendirmede biyobelirteç olarak kullanılmaktadır (Capen, 1996). Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre dar pençeli kerevitlerin hemolenf kolesterol değerleri cyprodinil, glyphosate isopropilamin tuzu ve indoxacarb etken maddeli pestisitlere maruziyetten etkilenmemiştir. Bunun aksine chlorpyrifos ve glyphosate pestisitlerine maruz bırakılan *P. leptodactylus*'un kolesterol düzeyleri azalma göstermiştir (Banaee vd., 2019). İlginçtir ki chlorpyrifos ve glyphosate pestisitlerinin birlikte kullanımı sonucu ise *P. leptodactylus*'ta kolesterol düzeyi artmıştır (Banaee vd., 2020). Başka bir çalışmada da spinosad pestisiti erkek kerevitlerin (*Procambarus clarkii*) hemolenfteki kolesterol seviyelerinde artışa, dişi kerevitlerin kolesterol seviyelerinde ise azalmaya neden olmuştur (Abd El-Atti ve Saied, 2018).

Çalışmamız kapsamında incelenen bir başka biyokimyasal parametre olan toplam protein, albümin ve globulinin oluşturduğu hemolenfteki toplam protein miktarını ifade etmektedir (Banaee vd., 2020; Busher, 1990). Albümin birçok farklı role sahip bir proteindir. Başlıca görevleri arasında kolloid ozmotik basıncın (onkotik basınç) ayarlanması ile hormonlar, metaller ve ilaçlar gibi maddelerin taşınması yer almaktadır (Busher, 1990). Toplam proteinin globulin kısmı ise taşıyıcı proteinler, enzimler, komplementler ve immunoglobulinler de dahil olmak üzere birçok farklı proteini içermektedir (Busher, 1990). Bu çalışmada elde edilen bulgulara göre albümin seviyeleri gruplar arasında farklılık göstermezken cyprodinil etken maddeli pestisit maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerin hemolenfteki globulin ve toplam protein seviyeleri artış göstermiştir. Bu, cyprodinil gruplarındaki dar pençeli kerevitlerin bağışıklık sisteminin harekete geçtiği anlamına gelebilir (Lu vd., 2020). Bu sonuçların aksine chlorpyrifos ve glyphosate pestisitlerinin *P. leptodactylus*'ta toplam protein düzeylerini azalttığı bildirilmiştir (Banaee vd., 2019). Ayrıca kerevitlerdeki diğer çalışmalarda spinosad pestisitine maruz bırakılan *Procambarus clarkii*'de (Abd El-Atti ve Saied, 2018), s-metolachlor pestisitine maruz bırakılan *Procambarus virginialis*'de (Stara vd., 2019), tiyametoksam pestisitine maruz bırakılan *P. leptodactylus*'ta (Uçkun vd., 2021) ve atrazin pestisitine maruz bırakılan *Cherax destructor*'da hemolenf toplam protein değerlerinin etkilenmediği rapor edilmiştir.

Bu çalışmada cyprodinil, glyphosate isopropilamin tuzu ve indoxacarb etken maddeli ticari pestisit formülasyonlarının antioksidan sistem üzerindeki etkileri de belirlenmiştir. Bu amaçla dar pençeli kerevitlerin hepatopankreastaki antioksidan enzim aktiviteleri ve lipit peroksidasyon düzeyleri analiz edilmiştir. Lipit peroksidasyonu serbest radikallerin neden olduğu, hücre membranlarındaki lipitlerin degradasyonu ile sonuçlanan, hücrelerin hasar almış olabileceğine işaret eden bir süreçtir (Recknagel vd., 2020; Valgimigli, 2023). Lipit peroksidasyonu birçok çalışmada malondialdehit (MDA) miktarının tayin edilmesiyle belirlenir. Çünkü MDA, hücrelerdeki lipit peroksidasyonunun nihai ürünlerinden birisidir (Gawel vd., 2004). Bu araştırmada pestisitlere maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerin MDA düzeylerinin etkilenmediği gözlenmiştir. Bu sonuçlarla uyumlu olarak s-metolachlor pestisitine maruz bırakılan kerevitlerin (*Procambarus virginialis*) hepatopankreas lipit peroksidasyonu değişim göstermemiştir (Stara vd., 2019). Bir başka çalışmada da

glufosinate-ammonium pestisiti *Procambarus clarkii*'de MDA düzeylerini etkilememiştir (Zhang vd., 2023). Benzer şekilde atrazin pestisitine maruz bırakılan *Cherax destructor*'ta MDA seviyeleri kontrol grubu ile benzer olarak bulunmuştur (Stara vd., 2018). Bu sonuçların aksine lipit peroksidasyonunun tiyametoksam (Uçkun vd., 2021), penkonazol (Alkan Uçkun ve Barım Öz, 2020) ve azoksistrobin (Alkan Uçkun ve Barım Öz, 2021) pestisitlerine maruz bırakılan *P. leptodactylus*'ta ve sipermetrin pestisitine maruz bırakılan *Cherax quadricarinatus*'ta (Yuan vd., 2019) artış gösterdiği bildirilmiştir.

Stres; fizyolojik olarak homeostazinin iç veya dış nedenlere bağlı olarak tehdit altında olduğu hal olarak tanımlanmaktadır (Kyrrou ve Tsigos, 2009). Organizmanın homeostaziyi korumak için stres faktörlerinden kurtulması gerekir. Bu durumda antioksidan savunma sistemi devreye girer. Zira önemli stres faktörlerinden olan serbest radikaller (reaktif oksijen türleri, hidrojen peroksit, reaktif nitrojen türleri) bu sistem tarafından elimine edilir. Antioksidan sistemin başlıca enzimleri arasında süperoksit dismutaz (SOD) yer almaktadır. SOD tüm aerobik organizmalarda bulunur ve süperoksit radikalının (O_2^-) oksijen ve hidrojen peroksit dönüşümünü katalize eder (Wang vd., 2018). Bu araştırmada elde edilen bulgulara göre dar pençeli kerevitlerin SOD aktiviteleri cyprodinil, glyphosate isopropilamin tuzu ve indoxacarb etken maddeli pestisit maruziyetinden etkilenmemiştir. Bu sonuçlar, çalışmada kullanılan pestisitlerin *P. leptodactylus*'ta süperoksit üretimine neden olmadığına ve süperoksit üretimi ile sonuçlanan metabolik süreçleri etkilemediğine işaret etmektedir. Bu sonuçlara benzer şekilde Stara vd. (2019) mermer kerevitinde (*Procambarus virginialis*) s-metolachlor maruziyeti sonrasında SOD aktivitesinde değişim olmadığını bildirmişlerdir. Yine bir başka araştırmada subletal konsantrasyonlarda thiamethoxam pestisitine maruz bırakılan kerevitlerin (*P. leptodactylus*) SOD düzeyleri kontrol grubu ile benzer seyretmiştir (Uçkun vd., 2021). Bu bulgulara karşın Zang vd. (2023) glufosinate-ammonium pestisitinin toksik etkilerini inceledikleri araştırmada *Procambarus clarkii*'nin SOD seviyelerinin artış gösterdiğini rapor etmişlerdir. Bir başka pestisit olan azoksistrobin maruziyeti ise *P. leptodactylus*'un SOD aktivitesinin artmasına neden olmuştur (Alkan Uçkun ve Barım Öz, 2021).

Yine katalaz sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde cyprodinil etken maddeli pestisite maruz bırakılan gruptaki azalma; katalaz ve glutatyon peroksidazın cyprodinil maruziyeti nedeniyle gen ifadelerinin baskılanması veya mevcut olan moleküllerin substratlarının inhibe edilmesi nedeniyle gerçekleşmiş olabilir (Czenave vd., 2006; Yuan vd., 2019).

Histopatolojik inceleme, test edilen kimyasal kaynaklı dokularda meydana gelebilecek mikroskopik değişimlere doğrudan bir bakış sağladığı için toksikoloji çalışmalarında kritik bir rol oynamaktadır. Bilhassa kirleticilerin kronik ve subletal etkilerinin bir belirteci olarak kullanılan faydalı bir araçtır (Bernet vd., 1999). Kerevit hepatopankreası sindirim sıvılarının salgılanması, sindirilen gıdanın emilim ve depolanması ile ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu gibi birçok fizyolojik süreçte görev almaktadır (Icely ve Noot, 1992; Stara vd., 2019). Bu tez çalışmasında kontrol grubunda hepatopankreas doku kesitinin histolojik görünümünün sağlıklı (normal) olduğu müşahade edilmiştir. Cyprodinil ve indoxacarb gruplarına ait histopatolojik bulgular birbirine benzer olmakla birlikte ciddi dejeneratif değişimler görülmüştür. Bu grupların hücrelerinin düzensiz dizilimi tespit edilmiştir. Ayrıca genel olarak tübül yapısının bozulduğu ve lümenin genişlediği belirlenmiştir. Bunlara ek olarak hücre sınırlarının belirsiz olması ile birlikte hücresel bütünlüğün bozulduğu ve tübüller arası bağ dokuda yoğun bir şekilde granülositik hemosit agregasyonu saptanmıştır. Glyphosate isopropilamin tuzu etken maddeli pestisite maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerde ise hafif derecede dejenerasyon gözlenmiştir. Bu gruptaki bireylerin epitel hücrelerinde vakuol oluşumu meydana geldiği tespit edilirken, lümen genişlemiş ancak yıldız şeklini korumuştur. Bu bulgulara göre araştırmada kullanılan cyprodinil ve indoxacarb etken maddeli ticari pestisit formülasyonlarının dar pençeli kerevitlerin hepatopankreasında ciddi histopatolojik değişimlere neden olduğunu söylemek mümkündür. Glyphosate isopropilamin tuzu etken maddeli pestisit ise hafif histopatolojik değişime yol açmıştır. Benzer şekilde *Procambarus clarkii*'de glufosinate-ammonium (GLA) maruziyeti sonucu hepatopankreaste vakuol oluşumu ve lümen genişlemesi tespit edilmiştir (Zhang vd., 2023). Bir başka araştırmada çalışmamızın sonuçlarına paralel olarak atrazin pestisitine maruz bırakılan kerevitlerin (*Cherax destructor*) tübül epitelinde bütünlüğün bozulduğu belirlenmiştir (Stara vd., 2018). Bunlara ek olarak literatürde çeşitli kirleticilerin kerevitlerde histopatolojik

değişimlere neden olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur (Chupani vd., 2016; Li vd., 2023; Yu vd., 2017; Zhang vd., 2019).

Genotoksisite, genellikle bir kimyasal veya ajanın DNA veya kromozom hasarına neden olması olarak tanımlanmaktadır. Bu hasar üreme hücrelerinde meydana gelirse kalıtsal olarak değişmiş bir özelliğe, somatik hücrelerde meydana gelirse farklı biyolojik sonuçlara ve hatta kansere neden olabilecek bir somatik mutasyona neden olabilir (Phillips ve Arlt, 2009). Bu bağlamda günlük hayatımızda kullanılan kimyasalların genotoksik etkilerinin belirlenmesi yalnızca ekotoksikolojik açıdan maruz kalan hedef dışı organizmaların sağlığı açısından değil aynı zamanda nihai kullanıcı ve tüketici olan insan sağlığı açısından da yüksek önem arz etmektedir. Bu çalışmada toksik etkileri belirlenen cyprodinil, glyphosate isopropilamin tuzu ve indoxacarb etken maddeli ticari pestisit formülasyonlarının dar pençeli kerevitlerdeki genotoksik etkileri ortaya konulmuştur. Tek hücre jel elektroforezi (Comet Assay) yöntemi ile tayin edilen genotoksik etki sonuçlarına göre cyprodinil ve indoxacarb etken maddeli pestisitlerin DNA hasarına yol açmadığı tespit edilmiştir. Buna karşın glyphosate isopropilamin tuzu etken maddeli pestisitinin aşırı yüksek DNA hasarına neden olduğu belirlenmiştir. Literatürde kerevitlerde pestisit kaynaklı genotoksik etkiyi araştıran çalışmalar sınırlı olsa da bazı araştırmalar yapılmıştır. Örneğin Marçal vd. (2022) penoxsulam pestisitinin kerevitlerde (*Procambarus clarkii*) genotoksik etkiye neden olduğunu bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada deltametrin pestisitinin yine *P. clarkii*'de DNA hasarına yol açtığı rapor edilmiştir (Hong vd., 2021). Benzer şekilde chlorpyrifos ve dieldrin pestisitlerinin *Cambarellus montezumae*'de genotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir (Díaz-Barriga Arceo vd., 2015).

Bu çalışmada elde edilen tüm bulgular bir arada değerlendirildiğinde cyprodinil etken maddeli pestisite maruz bırakılan dar pençeli kerevitlerde hücre hasarına ve/veya strese işaret eden alkalın fosfatazın ve bağışıklık yanıtın harekete geçtiğinin göstergeleri olan globulin ve toplam protein miktarlarının arttığı belirlenmiştir. Ayrıca bu grupta katalaz ve glutatyon peroksidaz aktivitelerinin baskılandığı müşahade edilmiştir. Bununla birlikte hepatopankreasta ciddi histopatolojik hasar tespit edilmiştir. Cyprodinil etken maddeli pestisitlerin toksik etkileri diğer organizmalarda da araştırılmıştır. Örneğin bu çalışma sonuçlarına benzer şekilde cyprodinilin zebra

balığı (*Danio rerio*) embriyolarında da oksidatif hasara yol açtığı belirlenmiştir (Kim, 2022). Başka bir araştırmada Tang vd. (2020) cyprodinilin zebra balığı (*D. rerio*) larvalarında başta kalp olmak üzere gelişimi olumsuz etkilediğini belirlemişlerdir. Yine dişi zebra balıklarında (*D. rerio*) cyprodinil maruziyeti sonrasında üremenin olumsuz etkilendiğini ve cyprodinile maruz bırakılan dişilerin alt soyunda gelişim sorunları olduğunu tespit edilmiştir (Tang vd., 2022).

Mevcut tez çalışmasında glyphosate isopropilamin tuzu etken maddeli pestisit maruz bırakılan dar pençeli kerevit bireylerinde incelenen hiçbir biyokimyasal parametre kontrol grubuna kıyasla değişim göstermemiştir. Benzer şekilde antioksidan enzim aktiviteleri de glyphosate isopropilamin tuzu maruziyetinden etkilenmemiştir. Buna karşın bu grupta hafif derecede histopatolojik hasar ve ciddi derecede genotoksik hasar belirlenmiştir. Literatürdeki birçok çalışmada glyphosate etken maddeli pestisitlerin farklı canlılarda genotoksik etki meydana getirdiği bildirilmiştir. Mesela Alvarez-Moya vd. (2014) glyphosate isopropilamin tuzunun Nil tilapyasında (*Oreochromis niloticus*), telgraf çiçeğinde (*Tradescantia*) ve insan lenfosit hücrelerinde genotoksik etki meydana getirdiğini göstermişlerdir. Benzer şekilde Acar vd. (2021) glyphosate potasyum tuzunun Nil tilapyasında (*O. niloticus*) genotoksik etkiye neden olduğunu belirlemişlerdir. Bunlara ek olarak glyphosate içeren pestisitlerin başka organizmalardaki etkileri de incelenmiştir. Jofré vd. (2013) glyphosate isopropilamin tuzu etken maddeli iki farklı ticari pestisit formülasyonunun etkilerini araştırdıkları bir çalışmada her iki pestisit de zebra balığı (*D. rerio*) ve lepidisteste (*Poecilia reticulata*) yüksek toksik etki meydana getirdiğini rapor etmişlerdir. Aynı zamanda sadece *D. rerio* ile yaptıkları kronik toksisite deneyinde, kullanılan her iki pestisit de potansiyel hepatopankreas hasarına işaret eden alanin aminotransferaz ve aspartat aminotransferaz enzimlerinin artmasına neden olduğunu bildirmişlerdir. Bir başka araştırmada glyphosate isopropilamin tuzu etken maddeli ticari bir pestisit sığanlarda alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, alkalın fosfataz ve lipid peroksidasyonu arttırdığı bildirilmiştir (El-Shenawy, 2009).

Araştırmamızdaki üçüncü ve son pestisit olan indoxacarb maruziyeti sonucunda ise glyphosate isopropilamin tuzu grubuna benzer olarak biyokimyasal parametreler değişim göstermemiştir. Fakat indoxacarb grubunda katalaz ve glutatyon peroksidaz

aktivitesi artmıştır. Bunlara ek olarak bu grupta da yine ciddi histopatolojik değişimler gözlenmiştir. Diğer iki pestisitte olduğu gibi indoxacarbın da kerevitlerdeki toksik etkilerinin bugüne dek bilinmiyor olmasına karşın diğer bazı sucul canlılarda yapılan çalışmalar mevcuttur. Örneğin Ghelichpour vd. (2019), indoxacarb maruziyetinin sazan (*Cyprinus carpio*) balığında enflamasyon, oksidatif hasar ve doku hasarına neden olabileceğini tespit etmişlerdir. Başka bir çalışmada indoxacarbın kerevitler gibi krustasea alt şubesinde bulunan bir tatlı su kabuklusu olan *Gammarus kischineffensis*'te bu çalışmada hepatopankreasta olduğu gibi solungaç dokusunda hemositik infiltrasyona yol açtığı tespit edilmiştir (Uğurlu vd., 2024). Ayrıca indoxacarbın rohu (*Labeo rohita*) balığında da toksik etki gösterdiği belirlenmiş ve deneklerin solumalarının güçlendiği ve düzensiz yüzme, hızlı operkulum hareketi ve oksijen almak için yüzeye çıkma davranışı gösterdikleri bildirilmiştir (Bantu vd., 2017).

Bu tez çalışmasında cyprodinil grubunda artış gösteren alkalın fosfataz aktivitesi dışında doku hasarına işaret eden bir bulgu olmamasına karşın tüm gruplarda histopatolojik hasar tespit edilmiştir. Bunun birkaç nedeni olabilir. Öncelikle çalışmamızda tayin edilen parametreler (örneğin laktat dehidrogenaz ve malondialdehit) iyi birer doku hasarı biyobelirteci olsalar da her zaman doku hasarına eşlik etmeyebilirler ve bir protein düzeyinin analiz edilmesi her zaman organizmanın gerçek sağlık ve metabolik durumu hakkında tam anlamıyla bilgi veremeyebilir (Costa, 2018). Bu çelişkiyi açıklayabilecek bir başka alternatif sebep bu çalışmada belirlenen biyokimyasal parametre verilerindeki yüksek varyasyon olabilir. Bunun temel nedeninin ise her iki cinsiyetten dar pençeli kerevit bireyleri kullanılması olabileceği düşünülmektedir. Zira farklı kirleticilerin erkek ve dişi kerevitlerde çok farklı sonuçlara neden olduğunu rapor eden çalışmalar mevcuttur. Örneğin spinosad pestisitine maruz bırakılan erkek *Procambarus clarkii* bireylerinin hemolenfinde kolesterol artış gösterirken, dişi bireylerde düşmüştür (Abd El-Atti ve Saied, 2018). Yine aynı çalışmada erkek bireylerin hemolenf trigliserit seviyeleri değişmezken, dişilerde artış göstermiştir. Atrazin pestisitinin toksik etkilerinin incelendiği başka bir araştırmada (Nassar vd., 2022) dişi *P. clarkii* bireylerinin hemolenfindeki toplam protein düzeyleri azalırken erkek bireylerde değişim göstermemiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Elde edilen verilere göre bu tez çalışmasında kullanılan cyprodinil, glyphosate isopropilamin tuzu ve indoxacarb etken maddeli pestisit formülasyonlarının dar pençeli kerevitte (*Pontastacus leptodactylus*) 96 saatlik akut toksisitelerinin düşük olduğu tespit edilmiştir. Bununla beraber subletal konsantrasyonlarda cyprodinil etken maddeli formülasyonun oksidatif hasara, bağışıklık yanıtın harekete geçmesine, antioksidan sistemin baskılanmasına ve şiddetli hepatopankreas hasarına yol açtığı söylenebilir. Glyphosate isopropilamin tuzu etken maddeli formülasyon; dar pençeli kerevitlerin genel sağlık durumu parametrelerini ve antioksidan sistemi etkilemezken hafif derecede histopatolojik değişimlere ve şiddetli genotoksisiteye neden olmuştur. Indoxacarb etken maddeli formülasyonda ise oksidatif ve ciddi histopatolojik hasarın meydana geldiğine dair bulgular elde edilmiştir. Belirlenen LC₅₀ düzeyleri doğrultusunda, bahsi geçen pestisitlerin toksik etki meydana getirebilmesi için suda çok yüksek konsantrasyonlarda bulunması gerektiğinden, Eğirdir Gölü'ndeki kerevit popülasyonlarının şu an için bu pestisitlerden kaynaklı bir risk altında olmadığı söylenebilir. Ancak bu bir varsayımdır ve Eğirdir Gölü ile birlikte diğer doğal su kaynaklarındaki pestisit konsantrasyonlarının araştırılması ve düzenli olarak izlenmesi gerekmektedir.

Glyphosate isopropilamin tuzunun neden olduğu genotoksisite, bu çalışmanın en dikkate değer bulguları arasındadır. DNA tüm organizmalarda aynı yapıda olduğundan, bu çalışmada elde edilen sonuçlar; glyphosate isopropilamin tuzunun bu pestisitleri kullanan veya bu pestisit ile kontamine olmuş gıdaları veya suyu tüketen insanlar ve bu pestisitın uygulandığı ekosistemdeki diğer canlılar açısından da tehlike arz edebileceğine ve hatta potansiyel bir karsinojen olabileceğine işaret etmektedir. Farklı canlılar veya hücre kültürleri üzerinde yapılan literatürdeki birçok diğer çalışmada da benzer sonuçlar elde edildiğinden bu konuda artan bir bilgi birikimi olduğu aşikardır. Bu bağlamda etken maddesi glyphosate ve türevleri olan pestisit formülasyonlarının kullanımı konusunda dikkatli olunması ve bu hususta karar mekanizmaları tarafından eyleme geçilmesi tavsiye edilmektedir.

Bu arařtırmada nicel verilerde cinsiyet farklılıđından kaynaklanmış olabileceđi dűřűnűlen varyasyonun azaltılması için kerevitlerde toksikoloji çalıřması yapacak gelecekteki arařtırmalarda denemelerin farklı cinsiyet bazlı oluřturulması űnerilmektedir. Ayrıca bu tez çalıřmasında cyprodinil, glyphosate isopropilamin tuzu ve indoxacarb etken maddeli pestisitlerin dar pençeli kerevitte akut toksik etkileri belirlenmiřtir. Gelecek çalıřmalarda bu pestisitlerin daha uzun sűreli maruziyet ve daha dűřűk konsantrasyon ile subletal kronik etkilerinin de incelenmesi gerekmektedir.



KAYNAKLAR

- Abd El-Atti, M. S., & Saied, R. M. (2018). Physiological and ultrastructural alterations in the crayfish *Procambarus clarkii* treated with spinosad (bacterial derived insecticide). *Biochemistry & Physiology: Open Access*, 7(1). doi:10.4172/2168-9652.1000226.
- Acar, Ü., İnanan, B. E., Navruz, F. Z., & Yılmaz, S. (2021). Alterations in blood parameters, DNA damage, oxidative stress and antioxidant enzymes and immune-related genes expression in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to glyphosate-based herbicide. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 249, 109147. doi:10.1016/j.cbpc.2021.109147.
- Alkan Uçkun, A., & Barım Öz, Ö. (2020). Acute exposure to the fungicide penconazole affects some biochemical parameters in the crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823). *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 35626-35637. doi:10.1007/s11356-020-09595-2.
- Alkan Uçkun, A., & Barım Öz, Ö. (2021). Evaluation of the acute toxic effect of azoxystrobin on non-target crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) by using oxidative stress enzymes, ATPases and cholinesterase as biomarkers. *Drug and Chemical Toxicology*, 44(5), 550-557. doi:10.1080/01480545.2020.1774604.
- Altıkat, A., Turan, T., Torun, F. E., & Bingöl, Z. (2009). Türkiye’de pestisit kullanımı ve çevreye olan etkileri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40(2), 87-92.
- Alvarez-Moya, C., Reynoso Silva, M., Valdez Ramírez, C., Gómez Gallardo, D., León Sánchez, R., Canales Aguirre, A., & Feria Velasco, A. (2014). Comparison of the in vivo and in vitro genotoxicity of glyphosate isopropylamine salt in three different organisms. *Genetics and Molecular Biology*, 37, 105-110. doi:10.1590/S1415-47572014000100016
- Banaee, M., & Ahmadi, K. (2011). Sub-lethal toxicity impacts of endosulfan on some biochemical parameters of the freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus*). *Research Journal of Environmental Sciences*, 5(11), 827-835. doi:10.3923/rjes.2011.827.835.
- Banaee, M. (2012). Adverse effect of insecticides on various aspects of fish’s biology and physiology. S. Soloneski & M. Larramendy (Eds.), *Insecticides - basic and other applications* (pp. 101-126). London: IntechOpen.
- Banaee, M., Sureda, A., Zohiery, F., Hagi, B. N., & Garanzini, D. S. (2014). Alterations in biochemical parameters of the freshwater fish, *Alburnus mossulensis*, exposed to sub-lethal concentrations of Fenprothrin.

International Journal of Aquatic Biology, 2(2), 58-68.
doi:10.22034/ijab.v2i2.32.

- Banaee, M., Akhlaghi, M., Soltanian, S., Gholamhosseini, A., Heidarieh, H., & Fereidouni, M. S. (2019). Acute exposure to chlorpyrifos and glyphosate induces changes in hemolymph biochemical parameters in the crayfish, *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 222, 145-155. doi:10.1016/j.cbpc.2019.05.003.
- Banaee, M., Akhlaghi, M., Soltanian, S., Sureda, A., Gholamhosseini, A., & Rakhshaninejad, M. (2020). Combined effects of exposure to sub-lethal concentration of the insecticide chlorpyrifos and the herbicide glyphosate on the biochemical changes in the freshwater crayfish *Pontastacus leptodactylus*. *Ecotoxicology*, 29, 1500-1515. doi:10.1007/s10646-020-02233-0.
- Bantu, N., Hagos, Z., Krishna, C., Abaynew, A., & Rathnamma, V. (2017). Acute toxicity and respiratory responses in freshwater fish, *Labeo rohita* exposed to an agrochemical indoxacarb. *Algerian Journal of Environmental Science and Technology*, 3(3), 595-603.
- Baran, I., & Soylu, E. (1989). Crayfish plague in Turkey. *Journal of Fish Diseases*, 12(2), 193-197. doi:10.1111/j.1365-2761.1989.tb00292.x.
- Barbee, G. C., McClain, W. R., Lanka, S. K., & Stout, M. J. (2010). Acute toxicity of chlorantraniliprole to non-target crayfish (*Procambarus clarkii*) associated with rice–crayfish cropping systems. *Pest Management Science*, 66(9), 996-1001. doi:10.1002/ps.1972.
- Bernet, D., Schmidt, H., Meier, W., Burkhardt-Holm, P., & Wahli, T. (1999). Histopathology in fish: Proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases*, 22(1), 25-34. doi:10.1046/j.1365-2761.1999.00134.x
- Buřič, M., Kouba, A., Machova, J., Mahovska, I., & Kozak, P. (2013). Toxicity of the organophosphate pesticide diazinon to crayfish of differing age. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 10, 607-610. doi:10.1007/s13762-013-0185-4
- Busher, J. T. (1990). Serum albumin and globulin. H. K. Walker, W. D. Hall & J. W. Hurst (Eds.), *Clinical methods: The history, physical, and laboratory examinations* (Chapter 101). 3rd edition, Boston: Butterworths.
- Capen, C. C. (1996). Toxic responses of the endocrine system. C. D. Klaassen (Ed.), *Casarett and Doull's toxicology: The basic science of poisons* (pp. 807-879). 5th edition, New York: McGraw-Hill.
- Cazenave, J., de los Angeles Bistoni, M., Pesce, S. F., & Wunderlin, D. A. (2006). Differential detoxification and antioxidant response in diverse organs of *Corydoras paleatus* experimentally exposed to microcystin-RR. *Aquatic Toxicology*, 76(1), 1-12. doi:10.1016/j.aquatox.2005.08.011.

- Chabera, J., Stara, A., Kubec, J., Buric, M., Zuskova, E., Kouba, A., & Velisek, J. (2021). The effect of chronic exposure to chloridazon and its degradation product chloridazon-desphenyl on signal crayfish *Pacifastacus leniusculus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208, 111645. doi:10.1016/j.ecoenv.2020.111645.
- Chupani, L., Zuskova, E., Stara, A., Velisek, J., & Kouba, A. (2016). Histological changes and antioxidant enzyme activity in signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus*) associated with sub-acute peracetic acid exposure. *Fish & Shellfish Immunology*, 48, 190-195. doi:10.1016/j.fsi.2015.11.010
- Costa, P. M. (2018). *The handbook of histopathological practices in aquatic environments*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-812032-3.00001-0>, Erişim tarihi: 11/04/2024
- Coşkun, D., & Ertan, Ö. (2016). Eğirdir Gölü (Hoyran Bölgesi) fitoplanktonik alg florası üzerine bir araştırma. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 20(1), 16-26. doi:10.19113/sdufbed.56521.
- Cox, R. A., & García-Palmieri, M. R. (1991). Cholesterol, triglycerides, and associated lipoproteins. H. K. Walker, W. D. Hall & J. W. Hurst (Eds.), *Clinical methods: The history, physical, and laboratory examinations* (Chapter 31). 3rd edition, Boston: Butterworths.
- Demircan, V., & Yılmaz, H. (2005). Isparta ili elma üretiminde tarımsal ilaç kullanımının çevresel duyarlılık ve ekonomik açıdan analizi. *Ekoloji*, 14(57), 15-25.
- Díaz-Barriga Arceo, S., Martínez-Tabche, L., Álvarez-González, I., López López, E., & Madrigal-Bujaidar, E. (2015). Toxicity induced by dieldrin and chlorpyrifos in the freshwater crayfish *Cambarellus montezumae* (Cambaridae). *Revista de Biología Tropical*, 63(1), 83-96. doi:10.15517/rbt.v63i1.13665.
- Douglas, M. R., Rohr, J. R., & Tooker, J. F. (2015). Neonicotinoid insecticide travels through a soil food chain, disrupting biological control of non-target pests and decreasing soya bean yield. *Journal of Applied Ecology*, 52(1), 250-260. doi:10.1111/1365-2664.12372.
- Eaton, D. L., & Gilbert, S. G. (1996). Principles of toxicology. C. D. Klaassen (Ed.), *Casarett and Doull's toxicology: The basic science of poisons* (pp. 11-44). 5th edition, New York: McGraw-Hill.
- El-Shenawy, N. S. (2009). Oxidative stress responses of rats exposed to Roundup and its active ingredient glyphosate. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 28(3), 379-385. doi:10.1016/j.etap.2009.06.001.
- Esendal, H. (2007). Eğirdir Gölü su seviyesi mevsimsel değişiminin bulanık mantık metoduyla modellenmesi. Yüksek Lisans Tezi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. Isparta

- FAO. (2021). *Global production statistics 1950-2019*. <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-production/query/en>, Erişim tarihi: 18/04/2024
- Farhana, A., & Lappin, S. L. (Eds.). (2024). *Biochemistry, lactate dehydrogenase*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557536/>, Erişim tarihi: 18/04/2024
- Gallo, M. A. (1996). History and scope of toxicology. C. D. Klaassen (Ed.), *Casarett and Doull's toxicology: The basic science of poisons* (pp. 3-11). 5th edition, New York: McGraw-Hill.
- Gao, J., Wang, Y., Gao, B., Wu, L., & Chen, H. (2012). Environmental fate and transport of pesticides. H. S. Rathore & L. M. L. Nollet (Eds.), *Pesticides: Evaluation of environmental pollution* (pp. 29-48). 1st edition, Boca Raton: CRC Press.
- Gao, X., Liu, X., Song, X., Teng, P., Ji, H., Peng, L., Qiu, Y., Guo, D., & Jiang, S. (2021). Effect of maduramicin on crayfish (*Procambarus clarkii*): Hematological parameters, oxidative stress, histopathological changes and stress response. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 211, 111896. doi:10.1016/j.ecoenv.2021.111896.
- Gawel, S., Wardas, M., Niedworok, E., & Wardas, P. (2004). Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Wiadomosci Lekarskie* (Warsaw, Poland: 1960), 57(9-10), 453-455.
- Ghelichpour, M., Mirghaedi, A. T., Hoseinifar, S. H., Khalili, M., Yousefi, M., Van Doan, H., & Perez-Jimenez, A. (2019). Expression of immune, antioxidant and stress related genes in different organs of common carp exposed to indoxacarb. *Aquatic Toxicology*, 208, 208-216. doi:10.1016/j.aquatox.2019.01.011.
- Gholamhosseini, A., Banaee, M., Sureddi, A., Timar, N., Zeidi, A., & Faggio, C. (2023). Physiological response of freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus* exposed to polyethylene microplastics at different temperature. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 267, 109581. doi:10.1016/j.cbpc.2023.109581.
- Golub, E. E., & Boesze-Battaglia, K. (2007). The role of alkaline phosphatase in mineralization. *Current Opinion in Orthopaedics*, 18(5), 444-448. doi:10.1097/BCO.0b013e3282630851.
- Goth, L. (1991). A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clinica Chimica Acta*, 196(2-3), 143-151. doi:10.1016/0009-8981(91)90067-M.
- Hanson, B. (2017). *Glyphosate formulations - what's the diff (and what's a salt)?* UC Weed Science. <https://ucanr.edu/blogs/blogcore/postdetail.cfm?postnum=25903#:~:text=From%20a%20chemistry%20perspective%2C%20a,that%20has%20a%20positive%20charge>, Erişim tarihi: 18/04/2024

- Hantzidiamantis, P. J., Awosika, A. O., & Lappin, S. L. (Eds.). (2024). *Physiology, glucose*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545201/>, Erişim tarihi: 18/04/2024
- Hatami, M., Banaee, M., & Haghi, B. N. (2019). Sub-lethal toxicity of chlorpyrifos alone and in combination with polyethylene glycol to common carp (*Cyprinus carpio*). *Chemosphere*, 219, 981-988. doi:10.1016/j.chemosphere.2018.12.077.
- Hong, Y., Huang, Y., Yan, G., Yin, H., & Huang, Z. (2021). DNA damage, immunotoxicity, and neurotoxicity induced by deltamethrin on the freshwater crayfish, *Procambarus clarkii*. *Environmental Toxicology*, 36(1), 16-23. doi:10.1002/tox.23006.
- Hoşgören, M. (1994). Türkiye'nin gölleri. *Türk Coğrafya Dergisi*, 29, 19-51.
- Huff, T., Boyd, B., & Jialal, I. (Eds.). (2024). *Physiology, cholesterol*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470561/>, Erişim tarihi: 18/04/2024
- Icely, J. D., & Noot, J. A. (1992). Digestion and absorption: Digestive system and associated organs. F.W. Harison (Ed.), *Microscopic anatomy of invertebrates*. Wiley-Liss.
- Iyaniwura, T. T. (1991). Non-target and environmental hazards of pesticides. *Reviews on Environmental Health*, 9(3), 161-176. doi:10.1515/reveh.1991.9.3.161.
- Jofré, D. M., Germanó García, M. J., Salcedo, R. E., Morales, M., Alvarez, M., Enriz, R. D., & Gianinni, F. (2013). Fish toxicity of commercial herbicides formulated with glyphosate. *Environmental & Analytical Toxicology*, 4(1), 1000199. doi:10.4172/2161-0525.1000199
- Johansson, M. W., & Söderhäll, K. (1985). Exocytosis of the prophenoloxidase activating system from crayfish haemocytes. *Journal of Comparative Physiology B*, 156, 175-181. doi:10.1007/BF00695771.
- Karasu Benli, A. Ç., şahin, D., Selvi, M., Sarıkaya, R., Memmi, B. K., & Dinçel, A. S. (2016). The sublethal effects of (2, 4-Dichlorophenoxy) acetic acid (2, 4-D) on narrow-clawed crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823). *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 67(4), 289-296. doi:10.1515/aiht-2016-67-2793.
- Katip, A. (2019). Bursa ili tarımsal pestisit kullanımının değerlendirilmesi. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(1), 197-205. doi:10.17798/bitlisfen.452738.
- Kazancı, N. (1993). Eğirdir Gölü çanağının oluşum zamanına ilişkin bir gözlem. *Jeoloji Mühendisliği*, 42, 50-51.
- Kim, Y. (2022). Toxicological analysis of pyraclostrobin and cyprodinil on zebrafish larvae. Lisans Tezi. *Örebro Üniversitesi*. Örebro

- Korkmaz, M., & Başkalkan, S. (2011). Eğirdir Gölü ve çevresinde turizm gelişiminin sürdürülebilirliği üzerine değerlendirmeler. *Turkish Journal of Forestry*, 12(1), 62-69.
- Kyrou, I., & Tsigos, C. (2009). Stress hormones: Physiological stress and regulation of metabolism. *Current Opinion in Pharmacology*, 9(6), 787-793. doi:10.1016/j.coph.2009.08.007.
- Lapied, B., Grolleau, F., & Sattelle, D. B. (2001). Indoxacarb, an oxadiazine insecticide, blocks insect neuronal sodium channels. *British Journal of Pharmacology*, 132(2), 587-595. doi:10.1038/sj.bjp.0703853.
- Li, Y., Zhou, X., Guo, W., Fu, Y., Ruan, G., Fang, L., & Wang, Q. (2023). Effects of lead contamination on histology, antioxidant and intestinal microbiota responses in freshwater crayfish, *Procambarus clarkii*. *Aquatic Toxicology*, 265, 106768. doi:10.1016/j.aquatox.2023.106768.
- Lidova, J., Buric, M., Kouba, A., & Velisek, J. (2019). Acute toxicity of two pyrethroid insecticides for five non-indigenous crayfish species in Europe. *Veterinárni Medicina*, 64(3), 125-133. doi:10.17221/136/2018-VETMED.
- Lu, X., Peng, D., Chen, X., Wu, F., Jiang, M., Tian, J., Liu, W., Yu, L., Wen, H., & Wei, K. (2020). Effects of dietary protein levels on growth, muscle composition, digestive enzymes activities, hemolymph biochemical indices and ovary development of pre-adult red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). *Aquaculture Reports*, 18, 100542. doi:10.1016/j.aqrep.2020.100542.
- Lubos, E., Loscalzo, J., & Handy, D. E. (2011). Glutathione peroxidase-1 in health and disease: From molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxidants & Redox Signaling*, 15(7), 1957-1997. doi:10.1089/ars.2010.3586.
- Luna, L. G. (1968). *Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology*. 3th edition, New York: McGraw-Hill Book Company.
- Malev, O., Šrut, M., Maguire, I., Štambuk, A., Ferrero, E. A., Lorenzon, S., & Klobučar, G. I. (2010). Genotoxic, physiological and immunological effects caused by temperature increase, air exposure or food deprivation in freshwater crayfish *Astacus leptodactylus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 152(4), 433-443. doi:10.1016/j.cbpc.2010.07.006.
- Marçal, R., Marques, A. M., Pacheco, M., & Guilherme, S. (2022). Improving knowledge on genotoxicity dynamics in somatic and germ cells of crayfish (*Procambarus clarkii*). *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 63(6), 296-307. doi:10.1002/em.22501.
- Matsumura, F. (2012). *Toxicology of insecticides*. 2nd edition, New York: Springer.
- Mazlum, Y. (2007). Stocking density affects the growth, survival, and cheliped injuries of third instars of narrow-clawed crayfish, *Astacus leptodactylus* Eschscholtz,

1823 juveniles. *Crustaceana*, 80(7), 803-815.
doi:10.1163/156854007781363114.

Mazlum, Y., & Uzun, C. (2022). Impact of stocking density on the survival, growth and injury of narrow-clawed crayfish (*Pontastacus leptodactylus*) reared in a flowing brackish water system. *Acta Natura & Scientia*, 3(2), 163-183. doi:10.29329/actanatsci.2022.352.08.

McCarthy, J. F., & Zachara, J. M. (1989). Subsurface transport of contaminants. *Environmental Science & Technology*, 23(12), 1407-1417. doi:10.1021/es00063a001

Motta, E. V. S., & Moran, N. A. (2023). The effects of glyphosate, pure or in herbicide formulation, on bumble bees and their gut microbial communities. *Science of the Total Environment*, 872, 162102. doi:10.1016/j.scitotenv.2023.162102.

Nandi, A., Yan, L. J., Jana, C. K., & Das, N. (2019). Role of catalase in oxidative stress-and age-associated degenerative diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1-19. doi:10.1155/2019/9613090.

Narayanan, M., Kandasamy, S., He, Z., & Kumarasamy, S. (2022). Ecological impacts of pesticides on soil and water ecosystems and its natural degradation process. P. Singh, S. Singh & M. Sillanpää (Eds.), *Pesticides in the natural environment* (pp. 23-49). Amsterdam: Elsevier.

Nassar, S. E., Mohamed, A. A., & Said, R. M. (2022). Effects of herbicide atrazine on reproductive hormonal levels, Cytochrome P450, and gonadal structure of adult male and female crayfish, *Procambarus clarkii*. *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries*, 26(6), 1095-1114. doi:10.21608/EJABF.2022.279076

National Academies of Sciences. (2016). *Genetically engineered crops: Experiences and prospects*. Washington: The National Academies Press.

OECD. (2019). *Test no. 203: Fish, acute toxicity test, OECD guidelines for the testing of chemicals*. Paris: OECD Publishing. doi:10.1787/9789264069961-en

Olsvik, P. A., Berntssen, M. H. G., & Søfteland, L. (2015). Modifying effects of vitamin E on chlorpyrifos toxicity in Atlantic salmon. *PLoS One*, 10(3), e0119250. doi:10.1371/journal.pone.0119250.

Orlický, J., Ruššák, M., & Uhliarová, K. (1977). Alanine aminotransferase and lactate dehydrogenase activity in the crayfish and rabbit striated muscles. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 56(1), 71-75. doi:10.1016/0305-0491(77)90224-3.

Persson, M., Cerenius, L., & Söderhäll, K. (1987). The influence of haemocyte number on the resistance of the freshwater crayfish, *Pacifastacus leniusculus* Dana, to the parasitic fungus *Aphanomyces astaci*. *Journal of Fish Diseases*, 10(6), 471-477. doi:10.1111/j.1365-2761.1987.tb01098.x.

- Phillips, D. H., & Arlt, V. M. (2009). Genotoxicity: Damage to DNA and its consequences. *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*, 1, 87-110. doi:10.1007/978-3-7643-8336-7_4.
- Rahe, R., & Soylu, E. (1989). Identification of the pathogenic fungus causing destruction to Turkish crayfish stocks (*Astacus leptodactylus*). *Journal of Invertebrate Pathology*, 54, 10-15. doi:10.1016/0022-2011(89)90132-8.
- Recknagel, R. O., Glende, E. A., & Britton, R. S. (2020). Free radical damage and lipid peroxidation. R. G. Meeks & S. Harrison (Eds.), *Hepatotoxicology* (pp. 401-436). 1st edition, Boca Raton: CRC press.
- Reish, D. L., & Oshida, P. S. (1987). *Manual of methods in aquatic environment research, part 10: Short-term static bioassays*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Reynolds, J., Souty-Grosset, C., & Richardson, A. (2013). Ecological roles of crayfish in freshwater and terrestrial habitats. *Freshwater Crayfish*, 19(2), 197-218. doi:10.5869/fc.2013.v19-2.197.
- Ruttan, V. W. (2005). Scientific and technical constraints on agriculture production: Prospects for the future. *Proceedings of the American Philosophical Society*, 149(4), 453-468.
- Saed, M. A. R. (2020). Bazı pestisitlerin gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) biyokimyasal, histopatolojik ve genotoksik etkilerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. *Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. Kastamonu
- Safaeian, S., Gholamhosseini, A., Heidari, F., Kordestani, H., & Nazifi, S. (2020). Biochemical and total hemocyte count profiles of long-clawed crayfish (*Astacus leptodactylus*) as a reference interval in southern Iran. *Comparative Clinical Pathology*, 29, 361-368. doi:10.1007/s00580-019-03065-z.
- Schwarzenbach, R. P., Gschwend, P. M., & Imboden, D. M. (Eds.). (2003). *Environmental organic chemistry*. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/0471649643>, Erişim tarihi: 18/04/2024
- Sin, Y. W., Kenny, N. J., Qu, Z., Chan, K. W., Chan, K. W., Cheong, S. P. S., Leung, R. W. T., Chan, T. F., Bendena, W. G., Chu, K. H., Tobe, S. S., & Hui, J. H. (2015). Identification of putative ecdysteroid and juvenile hormone pathway genes in the shrimp *Neocaridina denticulata*. *General and Comparative Endocrinology*, 214, 167-176. doi:10.1016/j.ygcen.2014.07.018.
- Singh, N. P., McCoy, M. T., Tice, R. R., & Schneider, E. L. (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, 175(1), 184-191. doi:10.1016/0014-4827(88)90265-0.
- Sohn, L., Brodie, R. J., Couldwell, G., Demmons, E., & Sturve, J. (2018). Exposure to a nicotinoid pesticide reduces defensive behaviors in a non-target organism, the

- rusty crayfish *Orconectes rusticus*. *Ecotoxicology*, 27(7), 900-907. doi:10.1007/s10646-018-1950-4.
- Sönmez, A. Y., Karataş, M., Arslan, G., & Aras, M. S. (2021). *Sular bilgisi*. 2. basım, Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık.
- Stanley, J., Preetha, G., & Stanley. (2016). *Pesticide toxicity to non-target organisms*. Berlin: Springer.
- Stara, A., Kouba, A., & Velisek, J. (2018). Biochemical and histological effects of sub-chronic exposure to atrazine in crayfish *Cherax destructor*. *Chemico-Biological Interactions*, 291, 95-102. doi:10.1016/j.cbi.2018.06.012.
- Stara, A., Bellinvia, R., Velisek, J., Strouhova, A., Kouba, A., & Faggio, C. (2019). Acute exposure of common yabby (*Cherax destructor*) to the neonicotinoid pesticide. *Science of the Total Environment*, 665, 718-723. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.02.202.
- Tang, C., Shen, C., Zhu, K., Zhou, Y., Chuang, Y. J., He, C., & Zuo, Z. (2020). Exposure to the AhR agonist cyprodinil impacts the cardiac development and function of zebrafish larvae. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 201, 110808. doi:10.1016/j.ecoenv.2020.110808.
- Tang, C., Zhu, Y., Yang, C., He, C., & Zuo, Z. (2022). Reproductive toxicity of long-term exposure to environmental relevant concentrations of cyprodinil in female zebrafish (*Danio rerio*). *Science of the Total Environment*, 846, 157504. doi:10.1016/j.scitotenv.2022.157504.
- Uçkun, M., Yologlu, E., Uçkun, A. A., & Oz, O. B. (2021). Acute toxicity of insecticide thiamethoxam to crayfish (*Astacus leptodactylus*): Alterations in oxidative stress markers, ATPases and cholinesterase. *Acta Chimica Slovenica*, 68(3), 521-531.
- Uğurlu, P., Satar, E. İ., & Ünlü, E. (2024). Toxic effects of commercial grade indoxacarb and endosulfan on *Gammarus kischineffensis* (Schellenberg 1937) (Crustacea: Amphipoda). *Chemosphere*, 360, 142387. doi:10.1016/j.chemosphere.2024.142387.
- URL-1. Pesticide products required to be registered, <https://www.ecfr.gov/current/title-40/chapter-I/subchapter-E/part-152/subpart-A/section-152.15>, Erişim tarihi: 18/04/2024.
- URL-2. Food, genetically modified, <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/food-genetically-modified>, Erişim tarihi: 18/04/2024.
- URL-3. Integrated pest management, <https://www.usda.gov/oce/pest/integrated-pest-management>, Erişim tarihi: 18/04/2024.
- URL-4. Introduction to integrated pest management, <https://www.epa.gov/ipm/introduction-integrated-pest-management#Principles>, Erişim tarihi: 18/04/2024.

- URL-5. Agricultural consumption of pesticides worldwide from 1990 to 2021, <https://www.statista.com/statistics/1263077/global-pesticide-agricultural-use/#:~:text=From%201990%20to%202021%2C%20the,million%20metric%20tons%20in%202021>, Erişim tarihi: 18/04/2024.
- URL-6. Yıllar itibarıyla bitki koruma ürünlerinin (gruplara ayrılmış olarak) kullanım miktarları, 2006-2022), https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/DB_Bitki_Koruma_Urunleri/Istatistik/Yillar_Itibariyla_BKU_Kullanim_Miktar_2006-2022.pdf, Erişim tarihi: 18/04/2024.
- URL-7. Türkiye bankalar birliği tarım sektöru, Raporu https://www.tbb.org.tr/Content/Upload/Dokuman/8960/Tarim_Sektor_Raporu_130723.pdf, Erişim tarihi: 18/04/2024.
- URL-8. Ruhsat detay, Fragman 50 WG (imal), Erişim tarihi: 18/04/2024. <https://bku.tarimorman.gov.tr/BKURuhsat/Details/8234>,
- URL-9. Bitki koruma ürün ruhsatları, <https://bku.tarimorman.gov.tr/BKURuhsat/Index?csrt=2065621092926047327>, Erişim tarihi: 18/04/2024.
- URL-10. Pesticide fact sheet, Cyprodinil, https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-288202_06-Apr-98.pdf, Erişim tarihi: 18/04/2024.
- URL-11. Glyphosate-isopropylammonium, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Glyphosate-isopropylammonium>, Erişim tarihi: 18/04/2024.
- URL-12. Takimsan knock-out, <https://hektas.com.tr/wp-content/uploads/2022/09/Knock-Out-Takimsan-onayli-etiket.pdf>, Erişim tarihi: 18/04/2024.
- URL-13. Bitki koruma ürün ruhsatları, <https://bku.tarimorman.gov.tr/BKURuhsat/Index?csrt=18233410049808324069>, Erişim tarihi: 18/04/2024.
- URL-14. Pesticide fact sheet, Glyphosate, https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/reregistration/fs_PC-417300_1-Sep-93.pdf, Erişim tarihi: 18/04/2024.
- URL-15. Pesticide fact sheet, Indoxacarb, https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-067710_30-Oct-10.pdf, Erişim tarihi: 18/04/2024.
- URL-16. Gremlin, <https://hektas.com.tr/wp-content/uploads/2023/03/Gremlin-onayli-etiket.pdf>, Erişim tarihi: 18/04/2024.

- URL-17. Bitki koruma ürün ruhsatları, <https://bku.tarimorman.gov.tr/BKURuhsat/Index?csrc=5542268947102942198>, Erişim tarihi: 18/04/2024.
- URL-18. Eğirdir Gölü balıkçılık raporu, <https://www.wwf.org.tr/?1292/egirdirgolubalikcilikraporu>, Erişim tarihi: 18/04/2024.
- URL-19. The valuable ecological roles of crayfish and the discovery of two new species, <https://www.backyardecology.net/the-valuable-ecological-roles-of-crayfish-and-the-discovery-of-two-new-species/>, Erişim tarihi: 18/04/2024.
- URL-20. Yasaklı veya kısıtlı aktif madde listeleri, <https://bku.tarimorman.gov.tr/AktifMadde/YasakliKisitliExcelFileList>, Erişim tarihi: 18/04/2024.
- URL-21. Yedi renkli göl Eğirdir, <https://isparta.ktb.gov.tr/TR-166054/yedi-renkli-gol-egirdir.html>, Erişim tarihi: 18/04/2024.
- URL-22. Eğirdir Gölü, <http://www.egirdir.gov.tr/egirdir-golu>, Erişim tarihi: 18/04/2024.
- Ünsal, M. (1998). *Kirlilik deneyleri-yöntemler ve sonuçların değerlendirilmesi*. T.C. Tarım ve Orman Köyişleri Bakanlığı, Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Bodrum, Seri A, No.11.
- Valgimigli, L. (2023). Lipid peroxidation and antioxidant protection. *Biomolecules*, 13(9), 1291. doi:10.3390/biom13091291.
- Velisek, J., Kouba, A., & Stara, A. (2013). Acute toxicity of triazine pesticides to juvenile signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus*). *Neuroendocrinology Letters*, 34, 31-36.
- Waechter, F., Weber, E., Hertner, T., & May-Hertl, U. (2010). Cyprodinil: A fungicide of the anilinopyrimidine class. R. Krieger (Ed.), *Hayes' handbook of pesticide toxicology* (pp. 1903-1913). 3th edition, Cambridge: Academic Press.
- Wang, Y., Branicky, R., Noë, A., & Hekimi, S. (2018). Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *Journal of Cell Biology*, 217(6), 1915-1928. doi:10.1083/jcb.201708007.
- Washington, I. M., & Van Hoosier, G. (2012). Clinical biochemistry and hematology. M. A. Suckow, K. A. Stevens & R. P. Wilson (Eds.), *The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents* (pp. 57-116). Cambridge: Academic Press.
- Wolfenson, K. D. M. (2013). *Coping with the food and agriculture challenge: Smallholders' agenda*. Food and Agriculture Organisation of the United Nations. https://www.developmentaid.org/api/frontend/cms/file/2021/04/Coping_with_f

- WWF. (2013). *Eğirdir Gölü'nde kirlilik durumu ve kirlilik kaynakları modelleme çalışması raporu*, <https://www.wwf.org.tr/?1780/egirdirgolukirlilikmodellemesi>, Erişim tarihi: 18/04/2024
- Xia, X. F., Zheng, J. J., Shao, G. M., Wang, J. L., Liu, X. S., & Wang, Y. F. (2013). Cloning and functional analysis of glutathione peroxidase gene in red swamp crayfish *Procambarus clarkii*. *Fish & Shellfish Immunology*, 34(6), 1587-1595. doi:10.1016/j.fsi.2013.03.375.
- Yang, W., Gu, Z., Chen, X., Gao, W., Wen, H., Wu, F., & Tian, J. (2022). Effects of phytase supplementation of high-plant-protein diets on growth, phosphorus utilization, antioxidant, and digestion in red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). *Fish & Shellfish Immunology*, 127, 797-803. doi:10.1016/j.fsi.2022.07.034.
- Yu, J., Xu, E. G., Ren, Y., Jin, S., Zhang, T., Liu, J., & Li, Z. (2017). Mixture toxicity of bensulfuron-methyl and acetochlor to red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*): Behavioral, morphological and histological effects. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(12), 1466. doi:10.3390/ijerph14121466.
- Yu, J., Xu, E. G., Li, W., Jin, S., Yuan, T., Liu, J., Li, Z., & Zhang, T. (2018). Acute toxicity of an emerging insecticide pymetrozine to *Procambarus clarkii* associated with rice-crayfish culture (RCIS). *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(5), 984. doi:10.3390/ijerph15050984.
- Yuan, J., Guo, J., Wang, H., Guo, A., Lian, Q., & Gu, Z. (2019). Acute toxicity of cypermethrin on the juvenile of red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Chemosphere*, 237, 124468. doi:10.1016/j.chemosphere.2019.124468.
- Zaman, S., & Çetin, B. (2006). Eğirdir Gölü'nde su ürünleri avcılığı. *Doğu Coğrafya Dergisi*, 11(16), 273-304.
- Zhang, Y., Li, Z., Kholodkevich, S., Sharov, A., Feng, Y., Ren, N., & Sun, K. (2019). Cadmium-induced oxidative stress, histopathology, and transcriptome changes in the hepatopancreas of freshwater crayfish (*Procambarus clarkii*). *Science of the Total Environment*, 666, 944-955. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.02.159.
- Zhang, Y., Dang, Y., Pei, F., Yuan, Y., Yuan, J., Gu, Z., & Wang, J. (2023). Sub-acute toxicity of the herbicide glufosinate-ammonium exposure in adult red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). *Environmental Pollution*, 337, 122605. doi:10.1016/j.envpol.2023.122605.



EKLER

EK A. Biyokimyasal Parametrelerin ve Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Ticari Kitler

ALT: Bioanalytic B80016, AST: Improgen AST9921, ALP: Bioanalytic B80011, LDH: Bioanalytic B80216, Glikoz: Improgen GLU9911, Trigliserit: Improgen TRG9921, Kolesterol: Improgen TCH9911, Toplam protein: Improgen TPR9911, Albümin: Improgen ABM9911, MDA: CAYMAN 10009055, SOD: BT Lab E0018FI, GPx: BT Lab EA0029FI.



EK B. DNA Hasarının Tayininde Kullanılan Makro Kodu

```
run("Set Measurements...", "centroid center integrated redirect=None decimal=3");
setFont("SansSerif", 18);
setColor(255, 255, 255);
//print("Tail Length      Tail Moment      % Tail DNA");
do {
    setTool("oval");
    waitForUser("Draw an oval around the comet head; Click OK");
    run("Measure");
    waitForUser("Draw an oval around the comet tail; Click OK");
    run("Measure");
    i = nResults - 1;
    tailx = getResult("XM", i);
    headx = getResult("X", i-1);
    taily = getResult("YM", i);
    heady = getResult("Y", i-1);
    tailden = getResult("RawIntDen",i);
    headden = getResult("RawIntDen",i-1);
    CometLen = sqrt( ((tailx-headx)* (tailx-headx)) + ((taily-heady)*(taily-heady)) );
    setResult("TailLen",i,(CometLen));
    setResult("TailMoment",i , (CometLen * tailden));
    setResult("%TailDNA",i ,(tailden/(tailden + headden))*100);
    //print(CometLen,"      ", (CometLen * tailden), "      ", (tailden/(tailden +
    headden))*100);
    updateResults();
    label =toString (i +1);
    drawString(label, tailx, taily);
    Dialog.create("Do Another?");
    Dialog.addCheckbox("Yes", true);
    Dialog.show();
    again = Dialog.getCheckbox();
} while (again ==true);
```