

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

**FLUVALİNATE'IN ZEBRA BALIĞI TESTİS  
DOKUSUNDA ETKİSİNİN HİSTOLOJİK OLARAK  
İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Ceyda ÖZTÜRK**

**Enstitü Anabilim Dalı : BİYOLOJİ**

**Tez Danışmanı : Doç. Dr. Nazan Deniz YÖN ERTUĞ**

**Haziran 2019**

T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FLUVALİNATE'İN ZEBRA BALIĞI TESTİS  
DOKUSUNDA ETKİSİNİN HİSTOLOJİK OLARAK  
İNCELENMESİ**

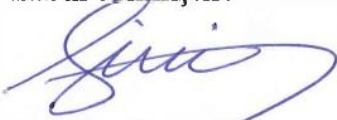
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Ceyda ÖZTÜRK**

**Enstitü Anabilim Dalı**

**BİYOLOJİ**

**Bu tez 11/06/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği / oyçokluğu ile kabul edilmiştir.**



**Doç. Dr. Figen-Esin  
KAYHAN**

**Jüri Başkanı**



**Doç. Dr. Hüseyin AKSOY**

**Jüri Üyesi**



**Doç. Dr. Nazan Deniz  
YÖNERTUĞ**

**Jüri Üyesi**

## **BEYAN**

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Ceyda ÖZTÜRK

11/06/2019

## TEŞEKKÜR

Öncelikle, bu yüksek lisans tez hazırlanması aşamasında bana her zaman destek olan, tavsiyeleri ve deneyimleriyle yol gösteren danışman hocam Sayın Doç. Dr. Nazan Deniz YÖN ERTUĞ'a, çalışmanın her aşamasında desteğini esirgemeyen Sayın Araş. Gör. Dr. Cansu Akbulut'a çok teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan ve bana destek veren aileme teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

|                                                               |      |
|---------------------------------------------------------------|------|
| TEŞEKKÜR.....                                                 | i    |
| İÇİNDEKİLER .....                                             | ii   |
| SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ .....                         | iv   |
| ŞEKİLLER LİSTESİ .....                                        | v    |
| TABLolar LİSTESİ.....                                         | vii  |
| ÖZET.....                                                     | viii |
| SUMMARY .....                                                 | ix   |
| BÖLÜM 1.                                                      |      |
| GİRİŞ .....                                                   | 1    |
| BÖLÜM 2.                                                      |      |
| GENEL BİLGİLER .....                                          | 2    |
| 2.1. Pestisitler .....                                        | 2    |
| 2.1.1. Fluvalinate .....                                      | 4    |
| 2.2. Zebra Balığı .....                                       | 6    |
| 2.2.1. Zebra balığının genel bilgiler .....                   | 6    |
| 2.2.2. Model organizma olarak zebra balığının kullanımı ..... | 6    |
| 2.2.3. Zebra balığının testis morfolojisi ve histolojisi..... | 8    |
| BÖLÜM 3.                                                      |      |
| MATERYAL, METOD .....                                         | 10   |
| 3.1. Materyal .....                                           | 10   |
| 3.1.1. Zebra balığı ( <i>Danio rerio</i> ).....               | 10   |
| 3.1.2. Fluvalinate .....                                      | 11   |
| 3.2. Yöntem .....                                             | 11   |

|                                                 |    |
|-------------------------------------------------|----|
| 3.2.1. Histolojik analiz .....                  | 11 |
| 3.2.1.1. Fiksasyon (tespit etme) .....          | 11 |
| 3.2.1.2. Dehidratasyon .....                    | 12 |
| 3.2.1.3. Şeffaflaştırma ve parafine gömme ..... | 12 |
| 3.2.1.4. Kesit alma .....                       | 13 |
| 3.2.1.5. Boyama .....                           | 13 |
| <br>BÖLÜM 4.                                    |    |
| BULGULAR .....                                  | 14 |
| 4.1. Histolojik Analizler .....                 | 14 |
| 4.1.1. Kontrol grubu .....                      | 14 |
| 4.1.2. 8µg/L fluvalinate uygulanmış grup .....  | 16 |
| 4.1.3. 16µg/L fluvalinate uygulanmış grup ..... | 20 |
| <br>BÖLÜM 5.                                    |    |
| TARTIŞMA VE SONUÇ .....                         | 24 |
| <br>KAYNAKLAR .....                             | 27 |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                  | 32 |

## SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

|     |                                                       |
|-----|-------------------------------------------------------|
| Cm  | : Santimetre                                          |
| °C  | : Santigrat derece                                    |
| L   | : Litre                                               |
| Mg  | : Miligram                                            |
| Sn  | : Saniye                                              |
| Dk  | : Dakika                                              |
| %   | : Yüzde                                               |
| µm  | : Mikrometre                                          |
| Ml  | : Mililitre                                           |
| µg  | : Mikrogram                                           |
| Gr  | : Gram                                                |
| EPA | : Uluslararası ABD Çevre Koruma Ajansı                |
| RUP | : Restricted Use Products (Sınırlı Kullanım Ürünleri) |

## ŞEKİLLER LİSTESİ

|                                                                                                                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2.1. Fluvalinate yapısal formülü. ....                                                                                                                                                      | 4  |
| Şekil 2.2. Spermatogenik hücreler. ....                                                                                                                                                           | 9  |
| Şekil 3.1. Çalışmamızda kullanılan zebra balığı.....                                                                                                                                              | 11 |
| Şekil 3.2. Laboratuvar çalışması.....                                                                                                                                                             | 12 |
| Şekil 4.1. Kontrol Grubu; seminifer tübüllerin içindeki spermatogenetik hücre kümeleri.....                                                                                                       | 14 |
| Şekil 4.2. Kontrol Grubu; seminifer tübül içinde yer alan spermatogenetik hücreler.....                                                                                                           | 15 |
| Şekil 4.3. Kontrol Grubu; seminifer tübül içinde yer alan spermatogenetik hücre kümeleri.....                                                                                                     | 15 |
| Şekil 4.4. Kontrol Grubu; seminifer tübül içinde yer alan spermatagenetik hücre kümeleri.....                                                                                                     | 16 |
| Şekil 4.5. 8µg/L Fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; seminifer tübüllerin kaynaşması, sperm hücrelerinde kümeleşmeler .....                                                                | 17 |
| Şekil 4.6. 8µg/L Fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; tübüller içerisinde vakuolizasyon, spermatogenetik hücre kümeleri arasında açılmalar, hücre kümelerinin sınırlarında bozulmalar ..... | 17 |
| Şekil 4.7. 8µg/L Fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; sperm hücrelerinde kümeleşmeler, spermatogonyum hücreleri sayısında azalmalar, seminifer tübüller içerisinde vakuolizasyon .....      | 18 |
| Şekil 4.8. 8µg/L Fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; sperm hücrelerinde kümeleşmeler.....                                                                                                  | 18 |
| Şekil 4.9. 8µg/L Fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; bağ dokuda kanlanma, bazal laminada kalınlaşma .....                                                                                  | 19 |
| Şekil 4.10. 8µg/L Fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; tübüller arası alanda kanlanma, tübül içerisinde vakuolizasyon .....                                                                 | 19 |

|                                                                                                                                                                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 4.11. 16µg/L Fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; tübül yapılarının birleşmesi ve bazal laminada kalınlaşmalar, bağ dokuda artış.....                                                                                                             | 20 |
| Şekil 4.12. 16µg/L Fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; sperm hücrelerinin kümeleşmesi, bağ dokuda artış, primer spermatosit hücre küme bütünlüğünde bozulma.....                                                                                       | 21 |
| Şekil 4.13. 16µg/L Fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; seminifer tübül yapısında bozulmalar, spermatogonyum hücrelerinin sayısında azalmalar, bağ dokuda kalınlaşmalar, seminifer tübüllerin kaynaşması, spermatogenik hücre kümeleri iç içe geçmesi.. | 21 |
| Şekil 4.14. 16µg/L Fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; seminifer tübüllerin yapısal bozulmaları, spermatogonyum hücrelerinde sayıca azalmalar, spermatogenik hücrelerin seminifer tübül içerisinde iç içe kaynaşması .....                             | 22 |
| Şekil 4.15. 16µg/L Fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; seminifer tübül yapılarındaki bozulma, sperm hücrelerin kümeleşmesi, bağ dokunun artması .....                                                                                                  | 22 |
| Şekil 4.16. 16µg/L Fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; spermatogonyum hücrelerinde azalmalar .....                                                                                                                                                     | 23 |

## TABLÖLAR LİSTESİ

|                                                     |    |
|-----------------------------------------------------|----|
| Tablo 2.1. Fluvalinate'ın genel özellikleri .....   | 4  |
| Tablo 3.1. Nötralformaldehit hazırlama .....        | 11 |
| Tablo 3.2. Dehidratasyon işlemi .....               | 12 |
| Tablo 3.3. Hematoksilen- Eozin boyama yöntemi ..... | 13 |

## ÖZET

Anahtar Kelimeler: Testis, Histoloji, Fluvalinate, Zebra Balığı

Son yıllarda pestisit kullanımı bilinçli olarak artmakta fakat bilinçsiz olarak canlılara zarar vermektedir. Hedef canlıya ulaşmayan bu pestisitler yağmur sularıyla akarsu ve nehirlerle karışarak sucul ekosistemde yaşayan diğer canlılara da etki göstermektedir.

Fluvalinate, günümüzde süs bitkilerinden, meyve ağaçlarından, sebzelerden böcekleri uzaklaştırmak, arı kovanlarında yer alan parazitleri kontrol etmek amaçlı kullanılan bir pestisittir.

Çalışmamızda çeşitli farklı dozlarda (8µg/L, 16µg/L) Fluvalinate zebra balığının ergin erkek bireylerindeki etkileri tespit edilmiştir. Zebra balıkları (*Danio rerio*) testis dokusu üzerindeki etkileri Hematoksilen boyama yöntemi uygulayarak incelenmiştir.

Fluvalinate uygulaması sonucunda; seminifer tübül yapılarında bozulmalar, bağ dokusunda artış, spermatogenez serisinde yer alan spermatogonyum hücrelerinin azaldığı tespit edilmiştir.

# **HISTOLOGICAL INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF FLUVALINATE ON ZEBRAFISH (*Danio rerio*) TESTIS TISSUE**

## **SUMMARY**

Keywords: Testis, Histology, Fluvalinate, Zebra Fish

These pesticides, which do not reach the target life, also have an effect on other aquatic organisms living in aquatic ecosystems by mixing with rain water streams and rivers.

Fluvalinate is a pesticide used today to remove insects from ornamental plants, fruit trees, vegetables and to control parasites in beehives. In recent years, the use of pesticides has been increasing consciously, but this use is unconsciously damaging to organisms.

In this study, the effects of different doses (8µg/L, 16µg/L) of Fluvalinate on adult male individuals of zebrafish have been determined. The effects of zebrafish (*Danio rerio*) on testicular tissue were investigated with hematoxylin and eosin staining method.

As a result of Fluvalinate exposure, distortions in seminiferous tubule structures, thickening of the connective tissue were detected in testicular tissue. Decrease in the number of spermatogonial cells were also found.

## BÖLÜM 1. GİRİŞ

Zebra Balığı; farmakolojik, genetik, toksikolojik çalışmalarda kolay üreyebilmesi ve gelişim sürecini hızlı tamamlayabilmesinden dolayı en çok tercih edilen omurgalı model organizmadır. Toksikoloji çalışmalarında zebra balığının tercih edilmesinin diğer bir nedeni ise yapılan çalışmanın kısa sürmesi, alınan sonuçların hassas olmasıdır.

Son yıllarda dünyada pestisit kullanımı giderek artmaktadır. Sucul ekosistemde yaşayan canlıların dışarıdan maruz kaldığı pestisit kullanımı toksik etkiler yaratmaktadır. Çalışmamızda kullanılan bir pestisit olan Fluvalinate günümüzde arı kovanlarında yer alan parazitleri kontrol etmek amaçlı kullanılan bir sentetik piretroiddir. Ayrıca bu sentetik piretroid meyve ağaçları, sebzeler, süs bitkileri üzerinde yaşayan diğer zararlılara karşı da koruma amaçlı olarak kullanılmaktadır. Fakat aşırı kullanıldığı zaman sucul ekosisteme ulaşarak canlılara zarar veren bir maddedir.

Çalışmamızda, farklı dozlarda Fluvalinate uygulamasının zebra balığı testis dokuları üzerinde yarattığı toksik etkinin incelenmesi amaçlanmıştır. Zebra balığı testis dokuları histolojik işlemlere tabi tutulmuş ve dokudaki değişimler ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Fluvalinate maruz bırakılan zebra balığından 5 gün sonra doku örnekleri alınarak rutin histolojik takipler yapılmıştır. Zebra balığı testis dokusunda meydana gelen değişimler Hematoksilen Eozin boyama yöntemi ile tespit edilmiştir.

## **BÖLÜM 2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Pestisitler**

Dünyada çevre kirliliğine sebep olan en önemli maddeler toksik bileşiklerdir. Pestisit tüketiminin bilinçsiz ve aşırı kullanımı sonucu artan çevre kirlenmesi ve insan sağlığı açısından çeşitli sorunların ortaya çıkmasına yol açmaktadır (Delen, 2008).

Su, yaşamın temel bileşenidir. Temiz su; insan sağlığı, doğal yaşam ve dengeli bir ekosistem için gerekli olmasına rağmen metaller, besleyiciler, pestisitler ve diğer kirlleticilerin aşırı kullanımı ile zarar görmektedir. Kirlilik nerede oluşursa oluşsun sonunda sucul ekosisteme ulaşmaktadır ve balıklar bu kirleticilere daha sık maruz kalmaktadır (Glaser, 2006; Dutta ve Dalal, 2008).

Dünya nüfusunun çok hızlı ve kontrolsüzce artışı karşılayacak oranda ürün sağlanamamasından dolayı gıda ihtiyacı giderek artmaktadır. Bu sorunun giderilmesi farklı yöntemler ile gerçekleştirilebilir. Birim alanda verimi ve kalitesi yüksek ürünler elde edilerek, maliyeti oldukça düşük, çevre kirliliğine sebep olmayacak önlemlerin alınması ile sağlanabilmektedir. Bugün yurdumuzda çeşitli zararlılarla mücadelede kullanılan kimyasallara pestisit adı verilmektedir. Bu maddelerin kullanılmasıyla ürün miktarlarında artışlar gözlemlenmiştir. Hedef olmayan canlılarda da hasarlara yol açmaktadır (Vural, 1984). Ancak bu tarım ilaçları suda, toprakta, meyve ve sebzeler üzerinde uzun süre bozulmadan kalarak çevre kirliliğine neden olmaktadır. Besin zinciri yoluyla insana kadar ulaşabilen çeşitli zararlar oluşturmaktadır (Solomon ve ark., 2011). Pestisitlerin teratojenik (anormal yapı oluşturma) ve mutajenik etkilere sahip oldukları saptanmıştır. Teratojenik etkinin oluşmasında doz ve stresin varlığı önemli etkindir (Kolayanova ve Tarkowski, 1981).

USEPA (Çevre Koruma Ajansı)'ya göre pestisitler; herhangi bir zararlıyı yok etmek, engellemek, uzaklaştırmak, azaltmak için kullanıldığı madde veya madde karışımlarıdır (USEPA, 2005).

Pestisitler kimyasal yapılarına, fiziksel hallerine ve hedef organizmaya göre de farklı isimlendirilmektedir. İnorganik, sentetik, biyolojik (biyopestisitler) şeklinde sınıflandırılabilir. Mikrobiyal ve biyokimyasal pestisitleri içeren kimyasallara biyopestisit denilmektedir (EPA,2009). Bilinçli kullanılan pestisitlerin kontrol altına almak amacıyla kısıtlama bir yol olarak gösterilse de kullanımlar devam etmektedir. Daha fazla zararı önlemek amacıyla farklı ilaçlama teknikleri önerilmektedir. Havadan ilaçlama yöntemi kullanılarak daha fazla zarar veren kimyasallar yer yüzündeki tüm canlılara toksik etki yaratmaktadır. Havadan ilaçlama yöntemi kesinlikle kaçınılması gereken bir uygulamadır (Öden, 2009).

Dünyada gün geçtikçe artan insan nüfusu ve endüstrinin hızla gelişmesi nedeniyle doğaya endüstriyel kirleticiler karışmaktadır. Endüstriyel kirleticilerden olan pestisitlerin yeryüzündeki canlılara direkt etki etmesi sebebiyle bilimsel çalışmalar devam etmektedir (Taicu ve ark., 2007). Pestisitler dolaylı olarak canlıların hayatına nüfuz ettiği için besin zincirini de etkilemektedir. Pestisitlerin doğada birikimi nedeni ile canlıların yaşamını da zorlaştırmaktadır (Hand ve Straalen, 2003).

Pestisitlerin balıklara etkisi doğrudan ölümle sonuçlanabilmektedir. Balıkların ölümü ile sonuçlanan durumlarda ölümü tetikleyen diğer durumlar gözlenebilmektedir. Yumurta bırakma, mevsimsel geçişlerde geçici açlık süresi gereğinden fazla sürmesi halinde etkilenme, dokularda hasar meydana getirme gibi etmenler gözlenir. Yavru olan balıklar ise bu durumlardan ergin balıklara oranla daha fazla etkilenmektedir (USEPA, 2005).

Sentetik piretroidler, endüstriyel kirleticilerin fazla kullanılması ile birlikte birbirleriyle tepkimeye girmeye ve sucul ekosistemdeki diğer canlılara, özellikle balıklara toksik etki yaratmaktadır. Bu nedenle balıklar üzerinde olumsuz etkiler yaratarak tehdit oluşturmaktadır. Kuşlar ve memeliler, balıklara göre sentetik

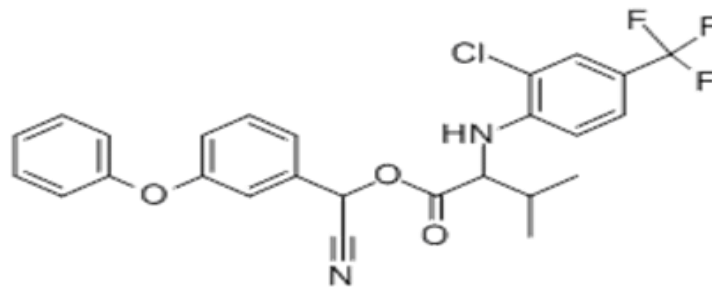
piretroidleri hızlı metabolize etmektedir. Bu bileşenler balıkların vücudundan daha yavaş dışarı atılmaktadır (Kamalaveni ve ark, 2001).

### 2.1.1. Fluvalinate

Fluvalinate ilk olarak 1983'te Tau- Fluvalinate formlarından kaydedilmiştir. Sentetik piretrioid olan Fluvalinate; sıvı halde, sarı renkte, suda pratik olarak çözünmeyen, organik çözücülerde çözünen, ışığa dayanıklı bir maddedir (Kaya ve ark., 2002). Pestisitler Fluvalinate içeriyorsa ‘‘Tehlikeli Madde’’ kelimesini taşımaktadır (Meister, 1992). Balıklara ve suda yaşayan omurgasızlara karşı yüksek toksisitesini nedeniyle Sınırlı Kullanım Pestisit (RUP) olarak sınıflandırılmıştır (FDA,1990). Fluvalinate, 2-bromo-3-metilbütirik asitin 2-kloro-3-triflorometillanin ile reaksiyona sokulması, ardından bir siyano-3-fenokibenzil alkol ile esterleştirilmesi ile sentezlenebilir (Müller ve ark., 2009).

Tablo 2.1. Fluvalinate'nin genel özellikleri (Kidd ve James, 1991).

|                               |                                                                                                        |
|-------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Görünüşü                      | Viskoz, sarı                                                                                           |
| Genel adı                     | Tau- fluvalinate                                                                                       |
| Kimyasal adı                  | (RS)-alfa-siyano-3-fenoksifenil N-(2-kloro-a,a,a-trifloro-p-tolil)-D-valinat                           |
| Molekül formülü               | C <sub>26</sub> H <sub>22</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>                         |
| Renk ve görünüş               | Sarı- Sıvı Madde (O'neil, 2013)                                                                        |
| Molekül ağırlığı              | 502,93g/mol                                                                                            |
| Sudaki çözünürlüğü (25°C)     | <0,005 mg/kg (Mac Bean, 2010)                                                                          |
| Diğer çözücülerde çözünürlüğü | Alkoller, aromatik hidrokarbonlar, diklorometan, dietil eter içinde serbestçe çözünür (Mac Bean, 2010) |
| Kaynama noktası               | 760 mm Hg' de 450°C (Mac Bean, 2010)                                                                   |
| Buharlaşma basıncı (25°C)     | 8,42x10 <sup>-9</sup> mm Hg (Tsuzuki, 2001)                                                            |
| Yoğunluk                      | 25 °C 1,29 g/cm <sup>3</sup> (Haynes, 2013)                                                            |
| Ayrışma Kadar Isıtıldığında;  | Hidrojen Florür, Hidrojen Klorür, Nitrojen Oksitlerin zehirli buharları açığa çıkar (Lewis, 2004)      |
| Erime Noktası                 | -14.1 °C (AB, 2010)                                                                                    |



Şekil 2.1. Fluvalinate yapısal formülü (Tomlin, 1995).

Fluvalinate, meyve ağaçları, sebze ve süs böcekleri üzerinde böcek zararlarına karşı olarak kullanılan sentetik bir piretroiddir. Hedef böceklerde hem mide hem de enzim aktivitesine sahiptir. Su ve yağı bir arada tutulabilmektedirler (Meister, 1992).

Hayvanların yarısına etki eden öldürücü kimyasal; sucul ortamda yaşayan canlılara belli bir süre içerisinde ağız yoluyla alınması ve nüfusun yarısına etki ederek öldüren konsantrasyon  $LC_{50}^1$  olarak adlandırılır. Bu konsantrasyon su ortamı veya hava ortamında bulunabilmektedir.

Fluvalinate, balıklar için oldukça zehirlidir (Meister, 1992). Bluegill sunfish 96 saatlik  $LC_{50}^1$  0,09µg/l, Gökkuşluğu alabalığı 2,9µg/l, küçük tatlı su kabuklu *Daphia magna* 48 saatlik  $LC_{50}^1$  değeri ise 74µg/l'dir. Midsid karidesde ise 2,9µg/l'dir (EPA, 1986). Akut toksisitesi tespit etmek amacıyla yapılan bir çalışmada; Fluvalinate uygulaması yapılan *Poecilia reticulata* için 96 saatlik  $LC_{50}^1$  değeri 0,026±0,5 µg/L bulunmuştur (Yalçınkaya, 2013).

Fluvalinate maddesini kullanarak yaptığı bir çalışmaya göre Kuzey Amerika Ay balığı'nda (*Mola mola*) 96 saatlik çalışma sonucunda  $LC_{50}^1$  değerini 0,9 µg/L bulunmuştur (Kidd ve James, 1991). Yapılan farklı bir çalışmada ise; *Oncorhynchus mykiss* için bu değer 2,9 µg/L; *Cyprinus carpio* içinse 2,9 µg/L olarak belirlenmiştir (Gupta, 2011).

Fluvalinate'in mutajenik bir etki göstermediği ancak belli dozlarının canlılar üzerinde teratolojik etki gösterdiği görülmüştür. Teratolojik etkinin oluşmasında doz ve stresin varlığı önemlidir (EPA, 1986).

Fluvalinate'ın suda yarılanma süresi 1 gündür ve Fluvalinate suda ışık karşısında bozunmaktadır. Işıktaki bozunma sonucu anilino asit ve 3 fenoksil benzoik asit oluşturmaktadır. Fluvalinate normal çevre şartlarında, hidrolize karşı kararlıdır (USEPA,2005).

---

<sup>1</sup>  $LC_{50}$ : Hayvanlarının yarısını öldürmek için gerekli konsantrasyon

## 2.2. Zebra Balığı

### 2.2.1. Zebra balığının genel bilgiler

Zebra Balığı (*Danio rerio*) Cyprinidae familyasına ait tropikal bir balık türüdür. Anavatanı Güneydoğu Asya olarak bilinen zebra balıkları yoğun olarak Pakistan ve Hindistan'da iç sularda bulunmaktadır. Balığın gövdesi ışığa bağlı olarak koyu mavi, gümüş beyazı veya altın sarısı çizgilerle örtülüdür (ZFIN, 2019).

Zebra balığı gövde şekli füziformdur ve terminal eğimli yanal olarak sıkıştırılmıştır. Ağız yukarı doğru yönelmiştir. Alt çene üst kısımdan daha ileriye uzanır ve gözler merkezi ve yukarıdan görülebilir değildir. Pelvik yüzgeç tabanına doğru uzanan iki yanal çizgi bulunur. İki çift barbut ve 5-7 tane mavi operkulum arkasından kaudal yüzgeçlere doğru şeritler uzanır (Barman, 1991).

Sırt yüzgeci kenarları koyu mavi, anal yüzgeçler ise çizgili ve beyaz renklidir. Erkekler ve dişiler benzer renktedirler. Erkeklerde daha fazla sarı renklenme ile daha büyük anal yüzgeçlere sahip olma eğilimi vardır. Zebra balığının erkeklerinde gonadlar 5-7 haftada farklılaşmaya başlar. Testisin gelişmesiyle interseksüel aşamada testisin boyutları (10-15 mm) şeklinde gelişir. Yetiştirme koşullarının gerginliğine bağlı olarak da; gelişiminin 3. ayında ise (12-17 mm) olacak şekilde gelişmektedir (Laale, 1977; Schilling, 2002; Devlin ve Nagahama, 2002).

### 2.2.2. Model organizma olarak zebra balığının kullanımı

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda zebra balığının kullanılması, insan ve diğer omurgalıların genom yapılarının benzer oluşu, metabolizmalarının ve embriyonik gelişimlerinin hemen hemen aynı olması, en önemlisi insanlarda bulunan tümör baskılayıcı genin (sitokrom P450 grubu) Zebra balığında da keşfedilmiş olmasıyla tercih edilen model organizmadır (Mashal, 2010).

Son yıllarda; ekotoksikoloji araştırmalarında zebra balığı dokuları, yumurtaları ve embriyoları sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. Zebra balığı dayanıklı bir tür olması, kolay elde edilmesi, laboratuvar ortamında kolay bakılabilmesi ve çoğaltılması, yumurtalarının şeffaf olması ve larvalarının gelişimlerinin kolay izlenebilmesi, üreme zamanının kısa olması ve embriyolarının toksik ajanlara duyarlı oluşu gibi nedenlerle toksikoloji çalışmalarında sıklıkla kullanılan model organizmaların başında gelmektedir (Kutluyer ve Aksakal, 2013).

İnsana ait birçok hastalık ve gelişim genlerinin benzeri zebra balığının genomunda da vardır. 1.7 milyar baz çiftine sahiptirler ve üretme yeteneği yüksek olan zebra balığı insan hastalıkları için de uygun bir modeldir. Alzheimer, konjenital kalp hastalıkları, kanser gibi birçok hastalıkta araştırmalara modellik yapmış omurgalı bir türdür (Sarras ve ark., 2015).

Laboratuvar ortamında kolay bakılabilmesi ve üretilmesi diğer canlılara göre hızlı ve kolay olmasıyla yeni tedaviler için yapılan çalışmalarda da verimli sonuçlar alınmasıyla kullanılır. İnsan genomuyla benzerlikleri olan zebra balığı lösemi hastalığı için ilaç tasarlama çalışmalarında da yardımcı olmaktadır (Ridges ve ark., 2012).

Zebra balığı genetik ve nörofizyoloji, potansiyel olarak davranışsal, ekolojik ve evrimsel biyoloji, gelişimsel olarak önemli bir model organizmadır (Grunwald Eisen, 2002).

Zebra balığıyla çalışmanın zorlu yanları da bulunmaktadır. Akciğerleri olmamasıyla, memeliler ile karşılaştırıldığında organları ve bedenleri arasındaki farklılıklarda çalışmalarda verimliliği etkileyebilmektedir. Zebra balığı bulunduğu ortamın sıcaklık derecesine bağlı olmasıyla memeliler ile kıyaslandığında enzim kinetiğinde değişiklikler meydana gelir. Bu durum da çalışmalarda dezavantaj yaratabilir (Mugoni ve ark., 2013).

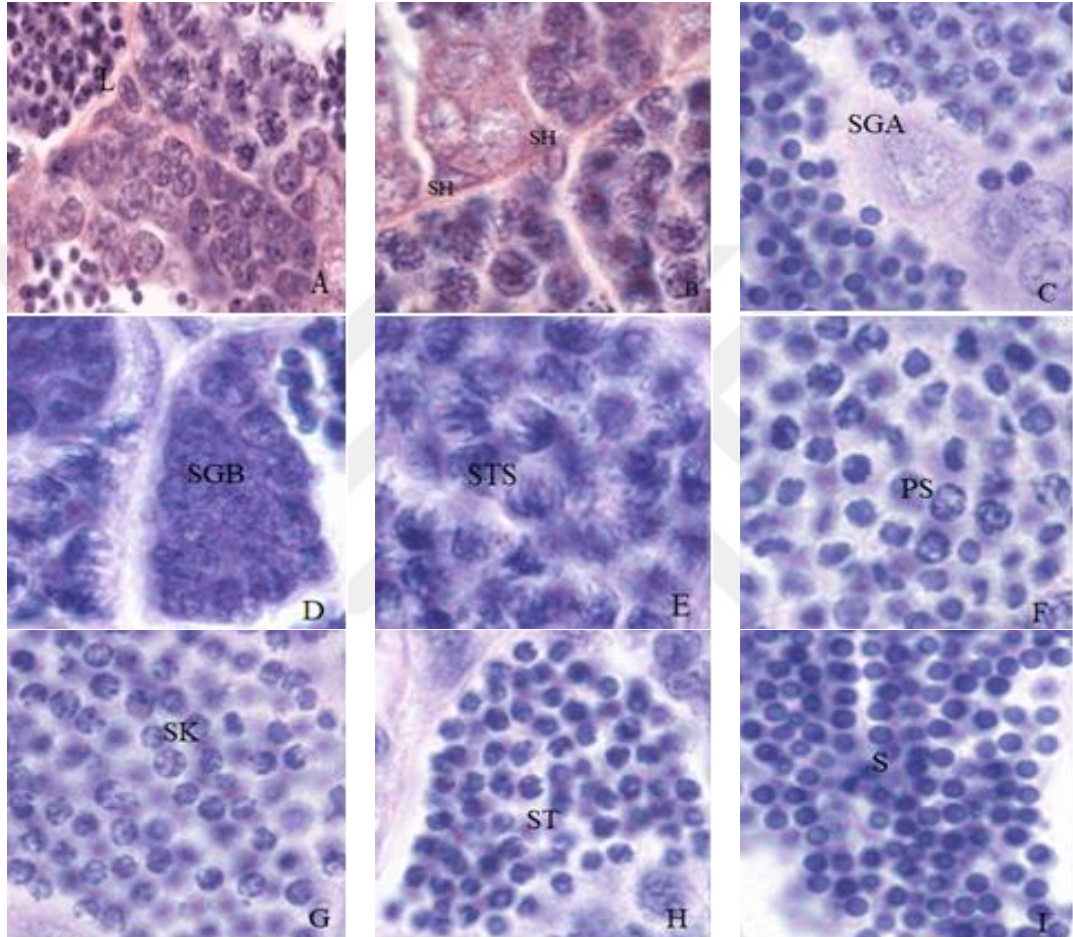
### 2.2.3. Zebra balığının testis morfolojisi ve histolojisi

Balıklarda testis; karın duvarı ve yüzme kesesi arasında çift taraflı bulunan organdır. Testis dokusunu histolojik olarak incelerken; Seminifer tübül, testis kanalları, bağ dokusu, spermatogenez hücreleri, Leydig hücreleri görülür. Spermatogenez hücreleri; spermatogonyum, primer spermatosit, sekonder spermatosit, spermatid ve sperm hücreleridir. Seminifer tübüllerin bazal kısmında spermatogonyum, primer ve sekonder spermatositler, spermatidler hücreleri görülmektedir. Lümen içerisinde ise sperm hücreleri görülür. Seminifer tübülleri birbirlerine bağlayan bağ dokuda bulunan hücreler ise Leydig hücreleridir (Şekil 2.2.-A) (Koc ve ark., 2012).

Mayoz ve spermiyogenez geçiren hücrelerin tüm evreleri spermatogenez adını alır ve tübülleri incelerken tübüller arası ve bağ doku birleşim yerlerinde Leydig hücreleri görülür (Schulz ve ark., 2010). Sertoli hücreleri spermatogenik hücreleri saran ve hücreler arası boşlukları dolduran destek hücreleridir (Şekil 2.2.-B (Şeftalioğlu, 1998). Fakat ışık mikroskopunda görüntülenen kesitlerde her zaman rastlanamamaktadır (Schulz ve ark., 2010).

Spermatogonyum hücreleri sitoplazması homojen yapıda olan, renksiz ve çekirdekleri büyük olan hücrelerdir. Belirsiz yapıda çekirdeklere sahip olan A spermatogonyum (Şekil 2.2.-C), daha koyu ve belirgin yapıda olanlar ise B spermatogonyum olarak adlandırılmaktadır (Şekil 2.2.-D). Spermatogonyum hücreleri mitoz bölünme ile çoğalırlar. Mayoz I'ın profaz safhasında bu hücreler spermatosit hücreleri olarak isimlendirilirler (Şekil 2.2.-E). Spermatogoyum hücrelerinden çoğalan spermatositler, spermatogonyum hücrelerine göre daha yoğun sitoplazmaya sahip ve daha küçük hücrelerdir. Primer spermatosit hücreleri oval yapıda ve sitoplazması yoğun olan hücrelerdir (Şekil 2.2.-F). Primer spermatosit hücreleri, mayoz I bölünmesi geçirdikten sonra sekonder spermatosit hücrelerini oluştururlar. Sekonder spermatosit hücreleri, primer spermatosit hücrelerine benzerlik gösterir fakat daha küçük ve yuvarlak yapıdadır (Şekil 2.2.-G) (Nobrega, 2014).

Sekonder spermatosit hücreleri mayoz II bölünmesi geçirdikten sonra oluşan hücreler spermatit hücreleridir ve seminifer tübül içerisinde yuvarlak ve küçük yapıda oluşlarıyla ayırt edilirler (Şekil 2.2.-H). Sperm hücreleri ise seminifer tübüllerin merkezi kısmında bulunan en küçük ve çekirdekli hücrelerdir (Şekil 2.2.-I) (Aswin ve ark., 2011).



Şekil 2.2. Spermatogenik Hücreler; A) Leydig Hücresi (L), B) Sertoli Hücresi (SH), C) A-Spermatogonyum (SGA), D) B-Spermatogonyum (SGB), E) Spermatosit (STS), F) Primer Spermatosit (PS), G) Sekonder Spermatosit (SK), H) Spermatid (ST), I) Sperm (S), H&E Boyama, x100 (ZFIN, 2019).

## BÖLÜM 3. MATERYAL, METOD

### 3.1. Materyal

#### 3.1.1. Zebra balığı (*Danio rerio*)

Tez çalışması kapsamında kullanılan zebra balıkları Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Balık Yetiştirme Laboratuvarından temin edildi. Akvaryumların içerisine dinlendirilmiş musluk suyu konulup sıcaklık termostatlı bir ısıtıcı ile  $28\pm1^{\circ}\text{C}$  olacak şekilde ayarlandı. Akvaryumların içerisindeki sular hava motorları ile oksijenlendirildi. Oda içerisine 14 saat aydınlık 10 saat karanlık olacak şekilde aydınlatma sistemi kurularak balıkların yaşam ortamı için gerekli olan fotoperiyot oluşturuldu. Bu ortam koşullarında 7 gün boyunca adaptasyona tabi tutuldu ve balıklar düzenli olarak yemlendi. Adaptasyon süreci tamamlandıktan sonra balıklar 1 kontrol, 2 deney grubu olacak şekilde ayrıldı. Deney gruplarına  $8\mu\text{g/L}$ ,  $16\mu\text{g/L}$ 'lık konsantrasyonlarda Fluvalinate akvaryumlara eklendi. 3 akvaryumun her birine 10 adet erkek balık koyuldu. Bu şekilde 5 gün boyunca akvaryumda bekletildi ve sonra diseksiyon işlemine tabi tutuldular.

Deney süresince kontrol grubu akvaryumlarındaki balıklarda normal davranışlar gözlemlendi. Deney grubu balıklarında madde eklendikten sonra ilk saatlerde hızlı yüzmeye, yüzeye doğru çıkma isteği gözlemlendi. Deneyin ilerleyen aşamalarında ters dönme, soluk alma güçlüğü, yüzeyde ve dipte yan yatma, dipte durgun kalma gibi davranışlar not edildi.



Şekil 3.1. Çalışmamızda kullanılan zebra balığı

### 3.1.2. Fluvalinate

Tez çalışması dahilinde kullanılan olan madde Fluvalinate'ın ticari kullanım adı Mavrik 2E olarak geçmektedir. Maddemizin Chemical Abstract Service (CAS) tarafından bilimsel literatürde tanımlanan ve o kimyasal özgü verilen özgü numarası 69409-94-5'dur. İçerik olarak 240g/L Fluvalinate içermektedir. Birçok bitkide görülen zararlılara karşı mücadelede kullanılan bu pestisit, Ziraat Tarım Bakanlığına bağlı olan bir ticari kurumdan temin edilerek deneyde kullanılmıştır.

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Histolojik analiz

#### 3.2.1.1. Fiksasyon (tespit etme)

Zebra balığından elde edilen testis dokularının fiksasyonu için %10 nötral formaldehit çözeltisi kullanılmıştır. Testis dokuları bu çözeltisi içerisinde 24 saat bekletilmiştir.

Tablo 3.1. Nötralformaldehit Hazırlama

| <b>%10 Nötralformaldehit İçeriği</b> | <b>Miktar</b> |
|--------------------------------------|---------------|
| %40 Formaldehit                      | 100 ml.       |
| Distile Su                           | 900 ml.       |
| NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>     | 4 g.          |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>     | 6,5 g.        |



Şekil 3.2. Laboratuvar çalışması

### 3.2.1.2. Dehidratasyon

Fiksasyonda tespit ettiğimiz dokularda su miktarı fazla olduğundan bu dokulardaki suyu çıkartmak için dehidratasyon işlemi uygulandı. Dokulardaki su, yükselen alkol serilerinden geçirilerek alındı. Bu çözeltilerin herbiri 24 saat dokulara uygulandı.

Tablo 3.2. Dehidratasyon İşlemi

| Çözelti | Çözelti İçeriği | Miktar | Süre    |
|---------|-----------------|--------|---------|
| %70     | Distile su      | 30 mL  | 24 saat |
|         | Etanol          | 70 mL  |         |
| %80     | Distile su      | 20 mL  | 24 saat |
|         | Etanol          | 80 mL  |         |
| %90     | Distile su      | 10 mL  | 24 saat |
|         | Etanol          | 90 mL  |         |
| %95     | Distile su      | 5 mL   | 24 saat |
|         | Etanol          | 95 mL  |         |
| %100    | Etanol          | 100 mL | 24 saat |
| %100    | Etanol          | 100 mL | 24 saat |

### 3.2.1.3. Şeffaflaştırma ve parafine gömme

Testis dokuları artan alkol serilerinden sonra 24 saat ksilolde bekletildi. Burada amaç dokularda bulunan alkolün ksilol ile yer değiştirmesiydi. Sonra ksilol+parafin de 58°C'lik etüvde 6 saat bekletildi. Daha sonra dokular parafine gömüldü.

#### 3.2.1.4. Kesit alma

Parafin blok içindeki testis dokularından Leica marka döner mikrotom yardımıyla 5-8 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler sıcak su banyosu içerisine bırakıldı. Daha sonra albumin mayer sürülmüş lamlara alınarak oda sıcaklığında kurutuldu.

#### 3.2.1.5. Boyama

Kesilen kesitlerin ışık mikroskopunda incelenmesi için Hematoksilen-Eozin boyama (Tablo 3.3.) yöntemiyle kullanıldı.

Tablo 3.3. Hematoksilen- Eozin Boyama Yöntemi

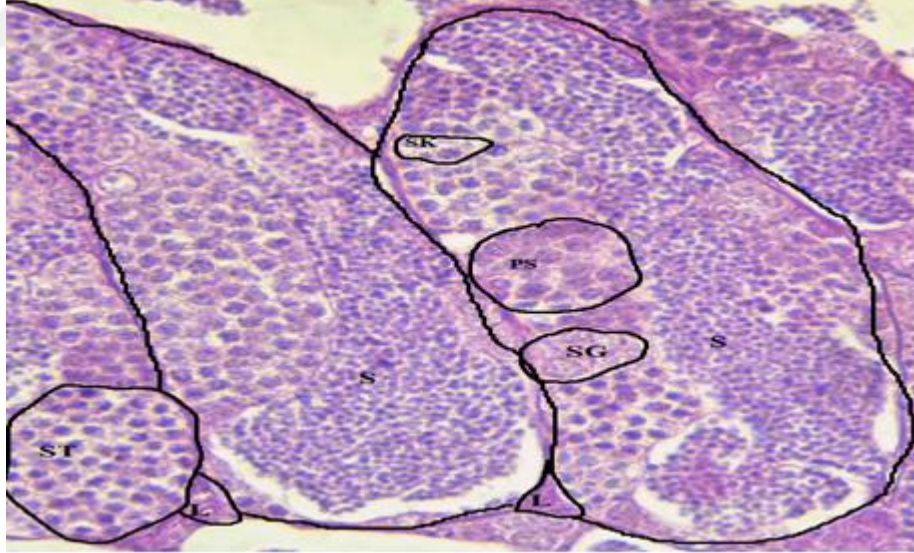
| İşlem                       | Uygulama Süreci |
|-----------------------------|-----------------|
| Parafinden kurtarma, ksilol | 2x 3 dk         |
| Dehidrasyon; %100 Etanol    | 2x1,5 dk        |
| %90 Etanol                  | 30 sn           |
| %70 Etanol                  |                 |
| Akarsu altında              | 30sn            |
| Harris Hematoksilen         | 50sn            |
| Distile su                  | 4 dk            |
| %95 Etanol                  | 1 dk            |
| Eozin                       | 1 dk            |
| %100 Etanol                 | 2 x 1,5dk       |
| Ksilol                      | 45sn            |

## BÖLÜM 4. BULGULAR

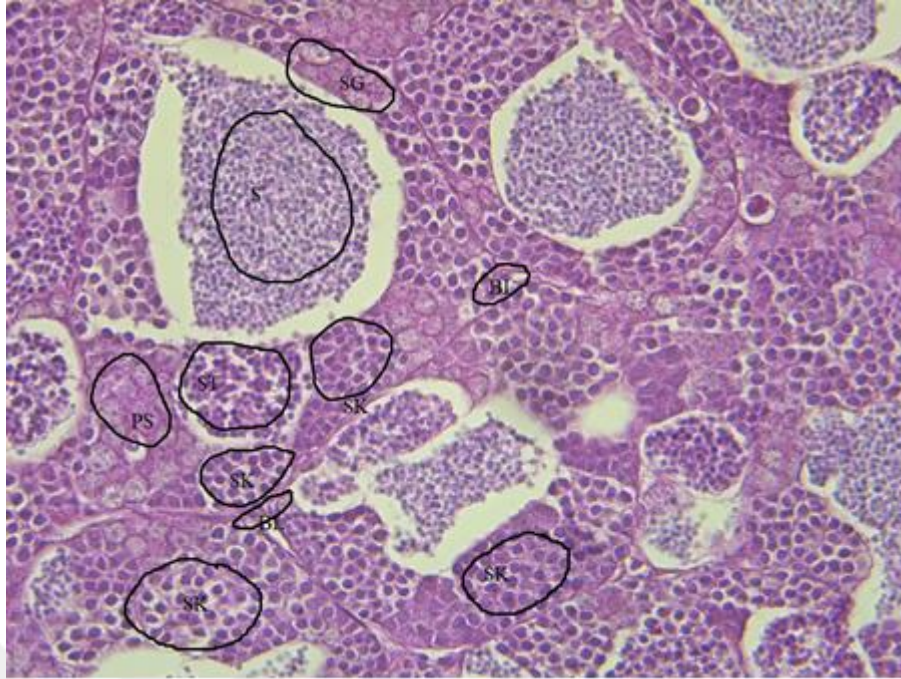
### 4.1. Histolojik Analizler

#### 4.1.1. Kontrol grubu

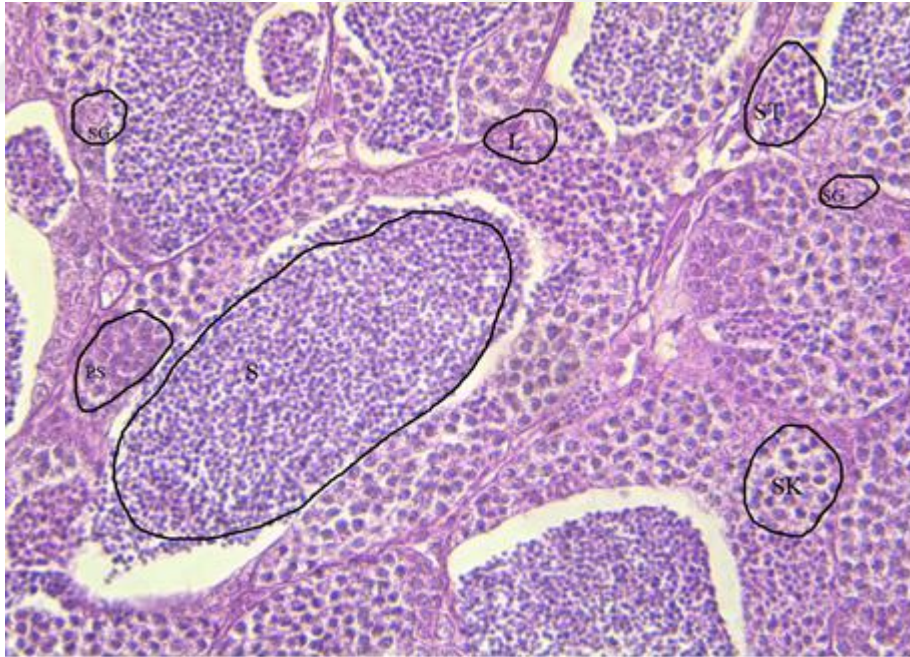
Kontrol Grubuna ait testis dokusu histolojik açıdan incelendiğinde seminifer tübüllerin bağ dokusu ile çevrelendiği ve tübüller arası bölgelerde leydig hücreleri izlendi. Seminifer tübüllerin etrafını bağ doku hücreleri gözlendi. Spermatogenik seriye ait hücre kümeleri görüldü. Spermatogonyum, primer spermatosit, sekonder spermatosit, spermatid, sperm, leydig hücreleri net şekilde izlendi.



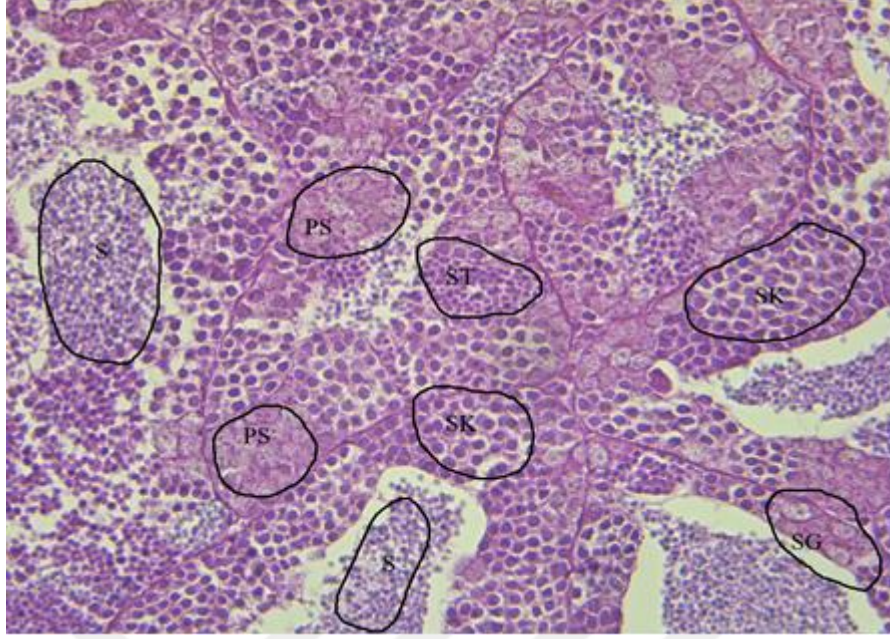
Şekil 4.1. Kontrol Grubu; Seminifer tübüller içindeki spermatogenetik hücre kümeleri, Sperm (S), Spermatidler (ST), Primer Spermatosit (PS), Sekonder Spermatosit (SK), Spermatogonyum(SG), Seminifer tübüller arasında yer alan Leydig hücresi (L), H&E Boyama, x40



Şekil 4.2. Kontrol Grubu; Seminifer tübül içinde yer alan spermatogenetik hücreler; Sperm (S), Spermatidler (ST), Primer Spermatozoid (PS), Sekonder Spermatozoid (SK), Spermatogonium (SG) ve Bazal Lamina (BL), H&E Boyama, x40



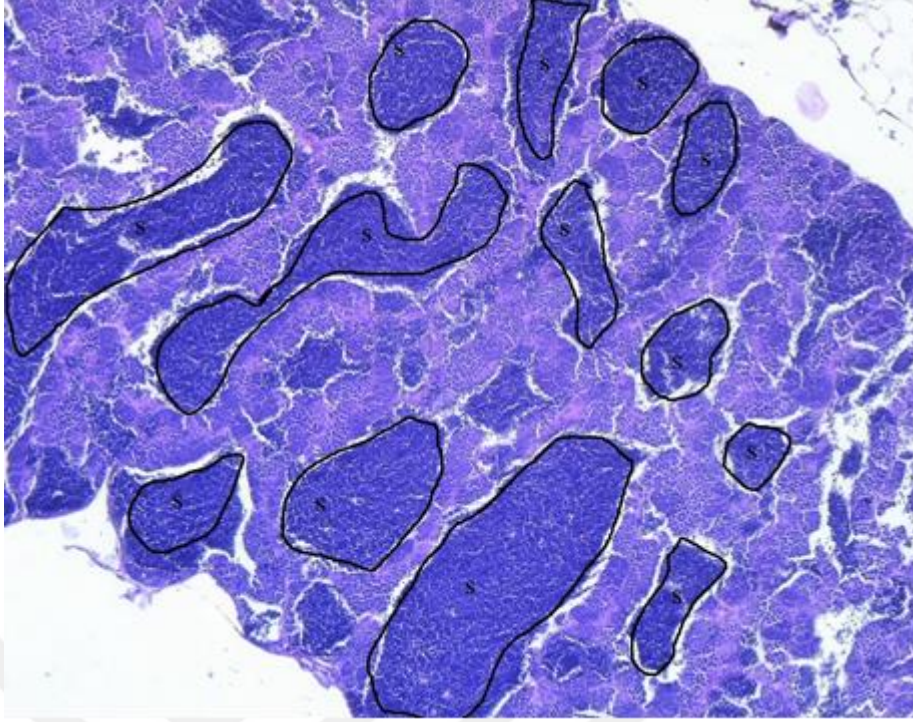
Şekil 4.3. Kontrol Grubu; Seminifer tübüller içindeki spermatogenetik hücre kümeleri; Spermatogonium (SG), Primer Spermatozoid (PS), Sekonder Spermatozoid (SK), Spermatidler (ST), Sperm (S), Leydig Hücre (L), H&E Boyama, x40



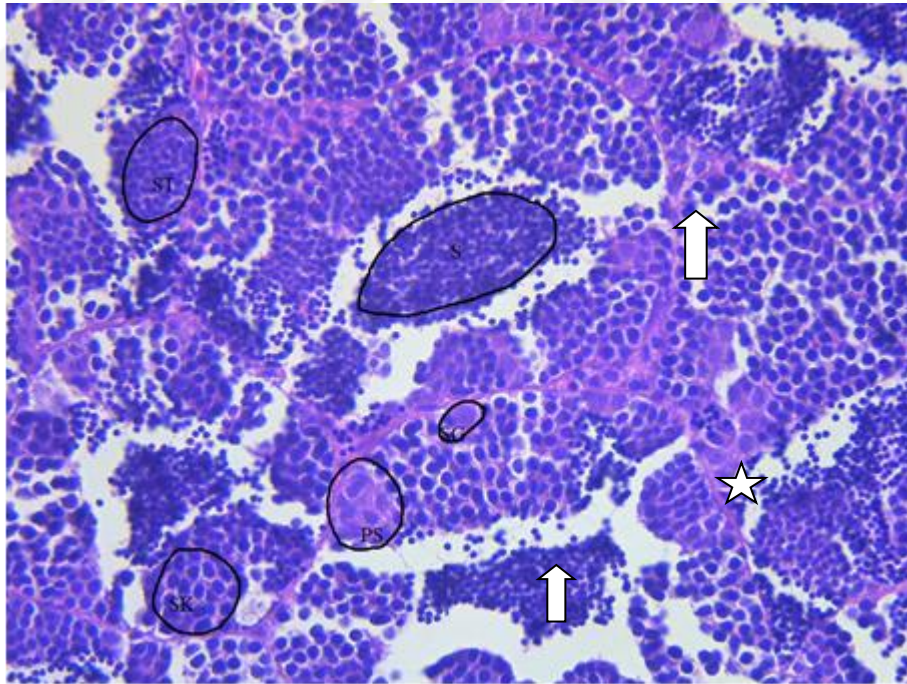
Şekil 4.4. Kontrol Grubu; Seminifer tübüller içindeki spermatogenetik hücre kümeleri, Sperm (S), Spermatidler (ST), Primer Spermatosit (PS), Sekonder Spermatosit (SK), Spermatogonyum (SG), Leydig Hücresi (L), H&E Boyama, x40

#### 4.1.2. 8µg/L fluvalinate uygulanmış grup

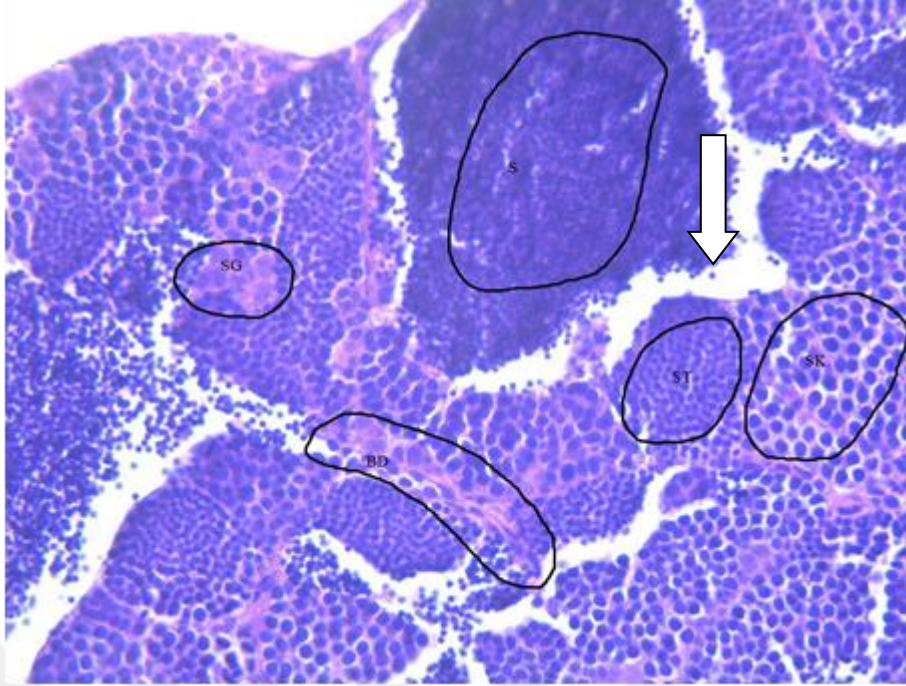
8µg/L Fluvalinate uygulanması yapılmış deney grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; seminifer tübül yapılarının bütünlüğünün bozulduğu, tübüller arasında sınırların kaybolduğu, tübüller arasında kaynaşmaların olduğu görüldü. (Şekil 4.5., Şekil 4.6.). Sperm sayısında çoğalmalar görüldü ve kümeleşmeler meydana geldiği izlendi (Şekil 4.7., Şekil 4.8.). Spermatogonyum hücrelerinde azalmalar görüldü (Şekil 4.7., Şekil 4.8.). Spermatogenetik hücre kümeleri arasında vakuolizasyon görüldü (Şekil 4.6., Şekil 4.7., Şekil 4.10.). Bağ doku kalınlaşmaları ve kanlanma gözlemlendi (Şekil 4.9., Şekil 4.10.). Seminifer tübüllerin kaynaştığı görüldü ve tübül içerisindeki hücre kümeleri kısmen seçilemedi (Şekil 4.5.). Spermatogenetik hücre kümeleri arasında açılmalar gözlemlendi (Şekil 4.6.). Hücre kümelerinin sınırlarında bozulmalar gözlemlendi (Şekil 4.6.).



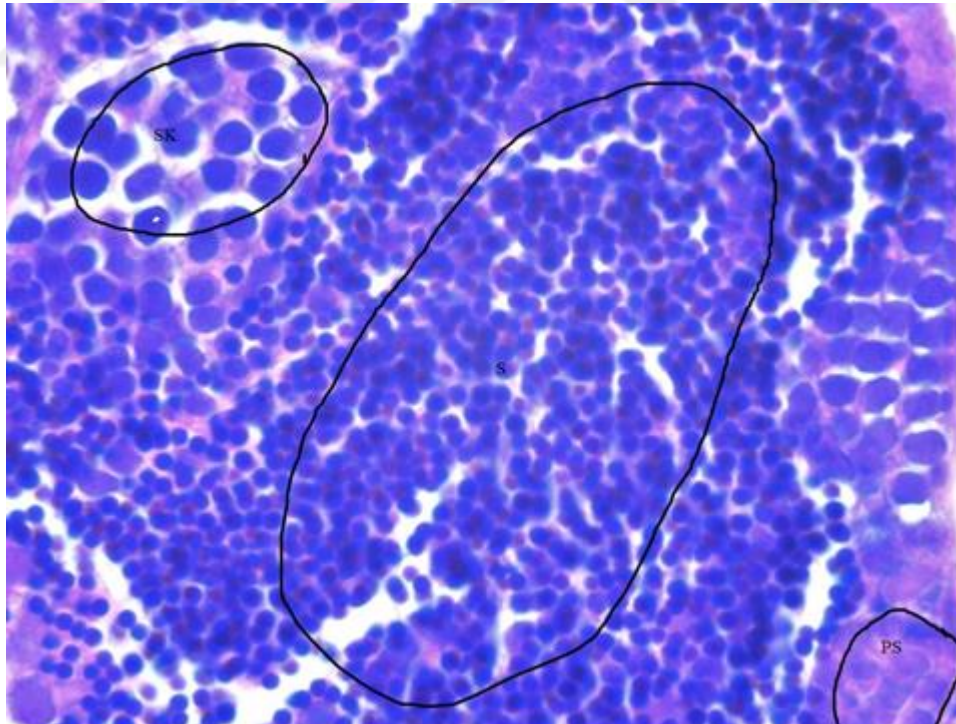
Şekil 4.5. 8µg/L Fluvalinate testis fokusu uygulanmış grup; seminifer tübüllerin kaynaşması, sperm hücrelerinde kümeleşmeler; Sperm (S), H&E Boyama, x10



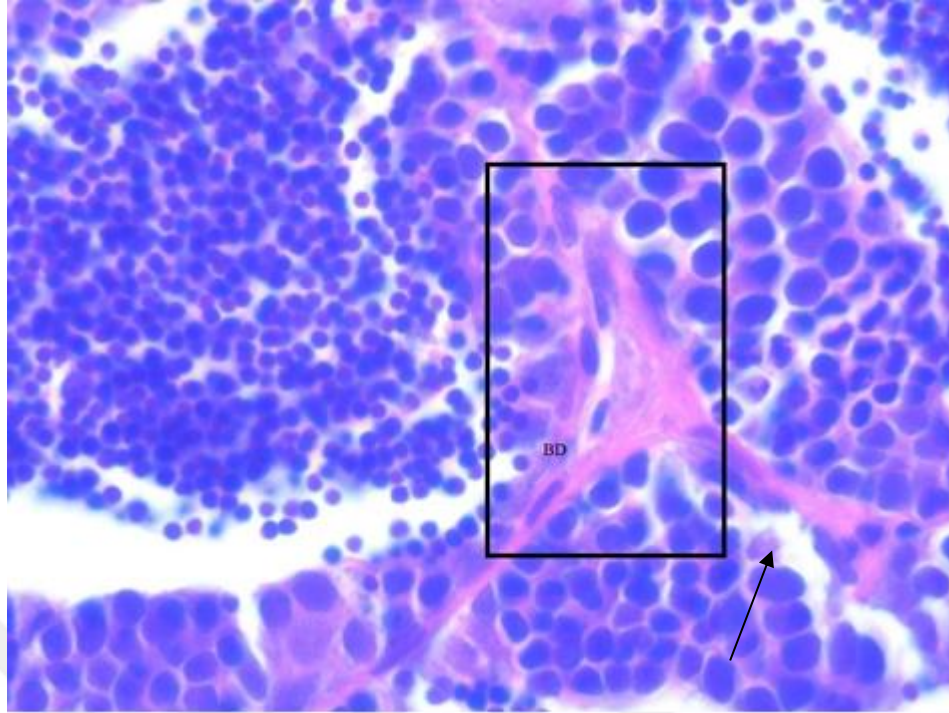
Şekil 4.6. 8µg/L Fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; tübüller içerisinde vakuolizasyon ↑ spermatogenetik hücre kümeleri arasında açılmalar ☆, hücre kümelerinin sınırlarında bozulmalar; Spermatogonyum (SG), Primer Spermatosit (PS), Sekonder Spermatosit (SK), Spermatid (ST), Sperm (S), H&E Boyama, x40



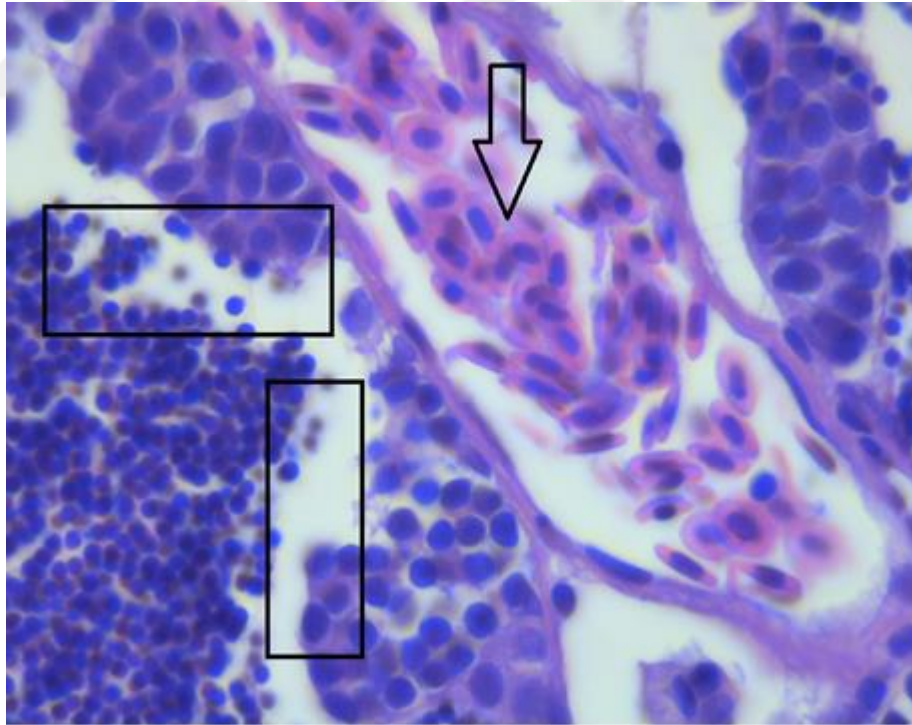
Şekil 4.7. 8µg/L Fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; sperm hücrelerinde kümeleşmeler, spermatogonyum hücreleri sayısında azalmalar, seminifer tübüller içerisinde vakuolizasyon, Spermatogonyum (SG), Primer Spermatosit (PS), Sekonder Spermatosit (SK),Spermat(ST), Sperm (S), Bağ Doku (BD), H&E Boyama, x40



Şekil 4.8. 8µg/L fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; sperm (S) hücrelerinde kümeleşmeler, Primer Spermatid (PS), Sekonder Spermatid (SK), Sperm (S), H&E Boyama, x100



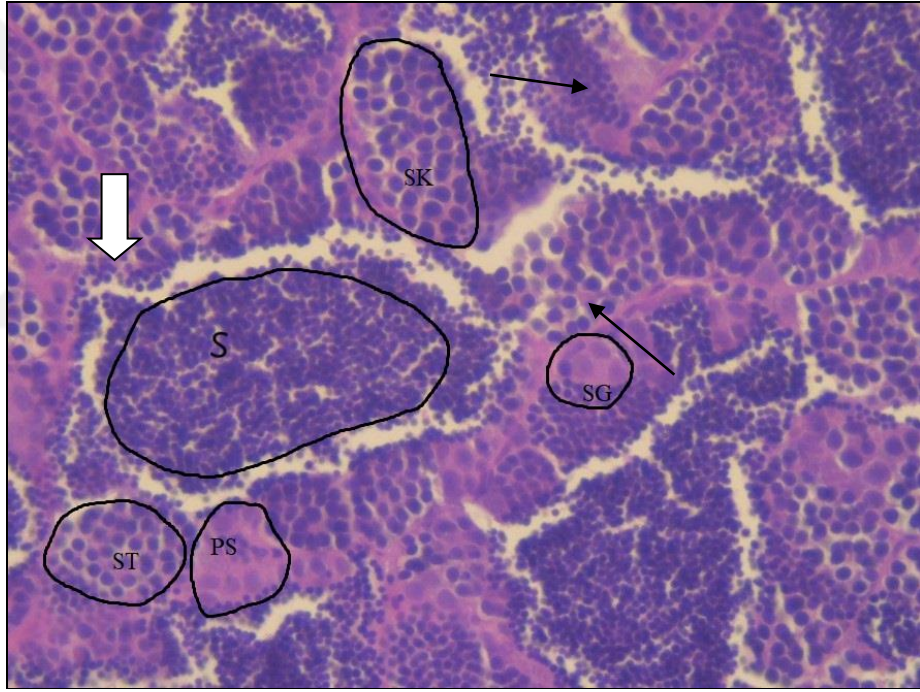
Şekil 4.9. 8µg/L Fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; bağ dokuda (BD) kanlanma, bazal laminada kalınlaşma H&E Boyama, x100



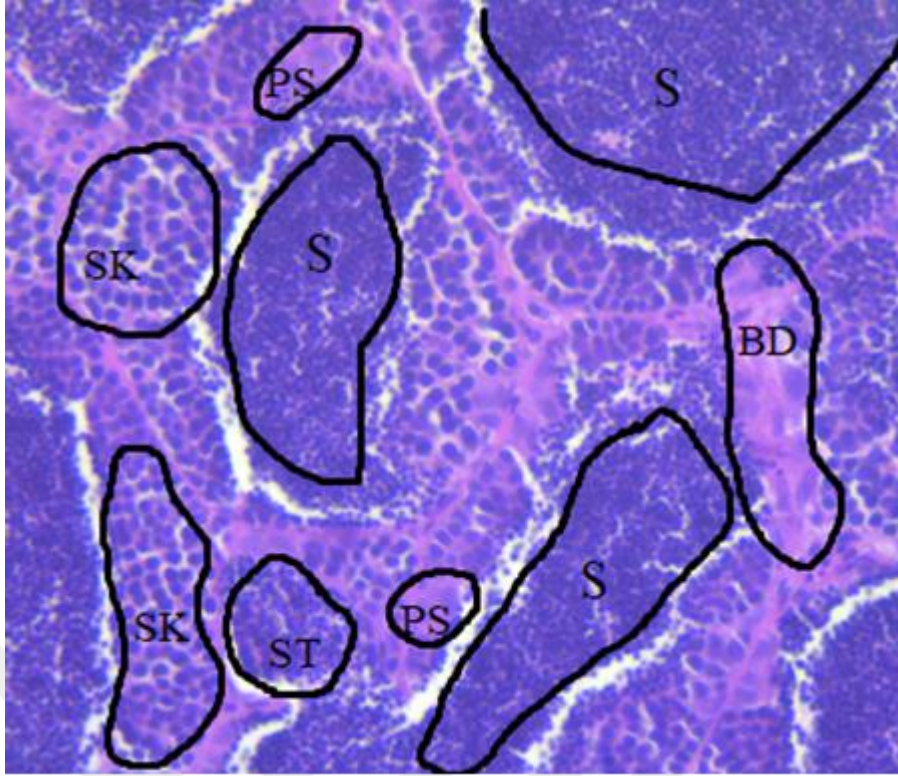
Şekil 4.10. 8µg/L Fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; tübüller arası alanda kanlanma ↴ tübül içerisinde vakuolizasyon □ ,H&E Boyama, x100

#### 4.1.3. 16µg/L fluvalinate uygulanmış grup

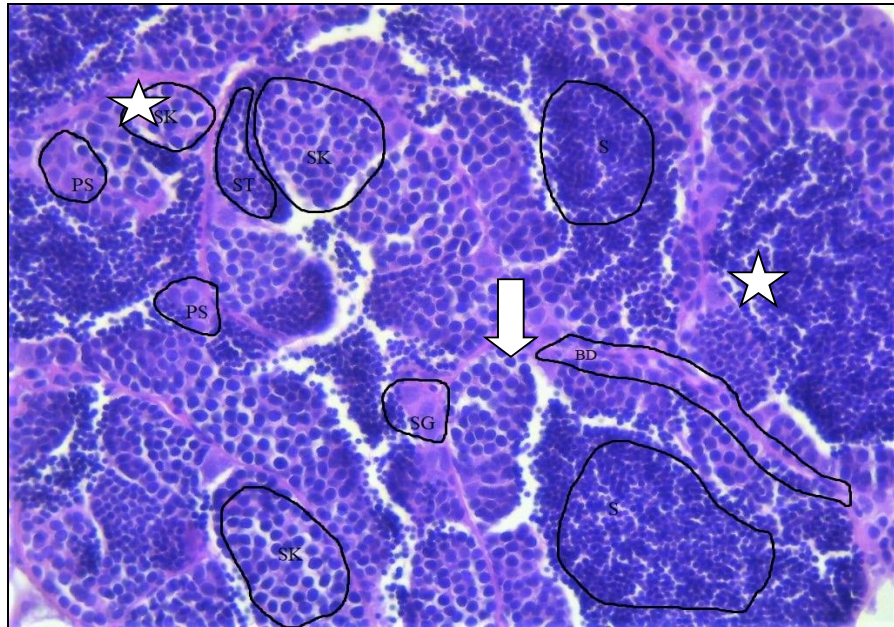
16µg/L Fluvalinate uygulaması yapılmış deney grubu; kontrol grubu ve 8µg/L Fluvalinate uygulaması yapılmış grup ile karşılaştırıldığında; spermatogonyum hücrelerinde belirgin bir şekilde azalma görüldü (Şekil 4.13., Şekil 4.14., Şekil 4.16.). Bağ doku sınırları belirgin bir şekilde kalınlaşmıştı (Şekil 4.11., Şekil 4.13., Şekil 4.14., Şekil 4.15.). Seminifer tübül yapılarının yapısal bütünlüğünün yer yer bozulduğu ve tübüllerde kaynaştığı görüldü (Şekil 4.11., Şekil 4.12., Şekil 4.13., Şekil 4.14.). Sperm hücrelerinde kümeleşme gözlemlendi (Şekil 4.12., Şekil 4.15.). Primer spermatosit hücre kümelerinde bozulmalar tespit edildi. (Şekil 4.12.).



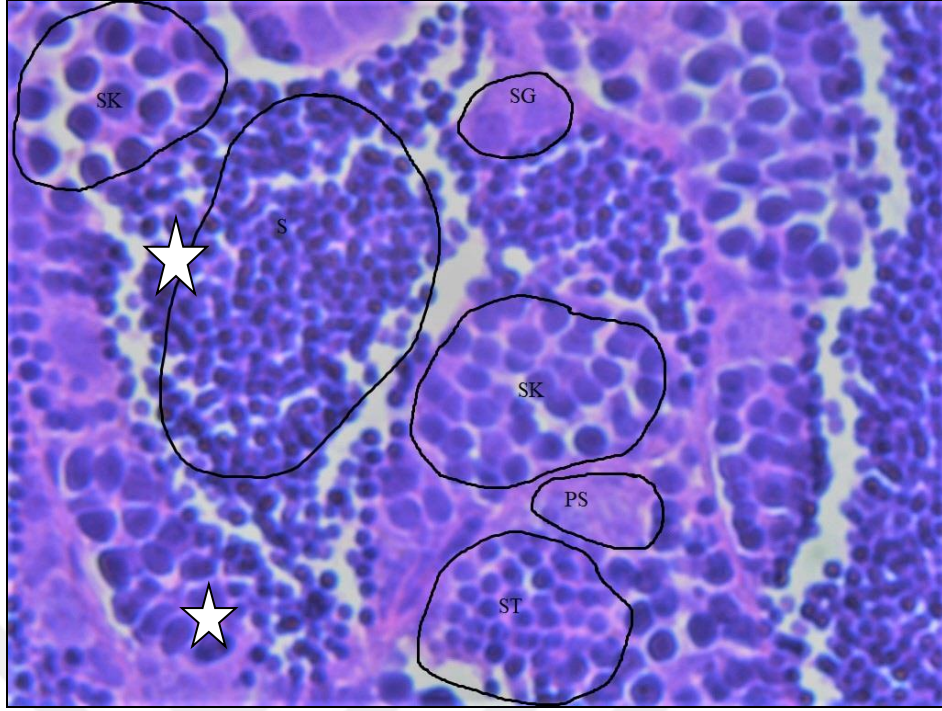
Şekil 4.11. 16µg/L Fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; tübül yapılarının birleşmesi ve bazal laminada kalınlaşmalar , bağ dokuda artış ; Speogonyum (SG), Primer Spermatosit (PS), Sekonder Spermatosit (SK),Spermatid (ST), Sperm (S), Bağ Doku(BD), H&E Boyama, x40



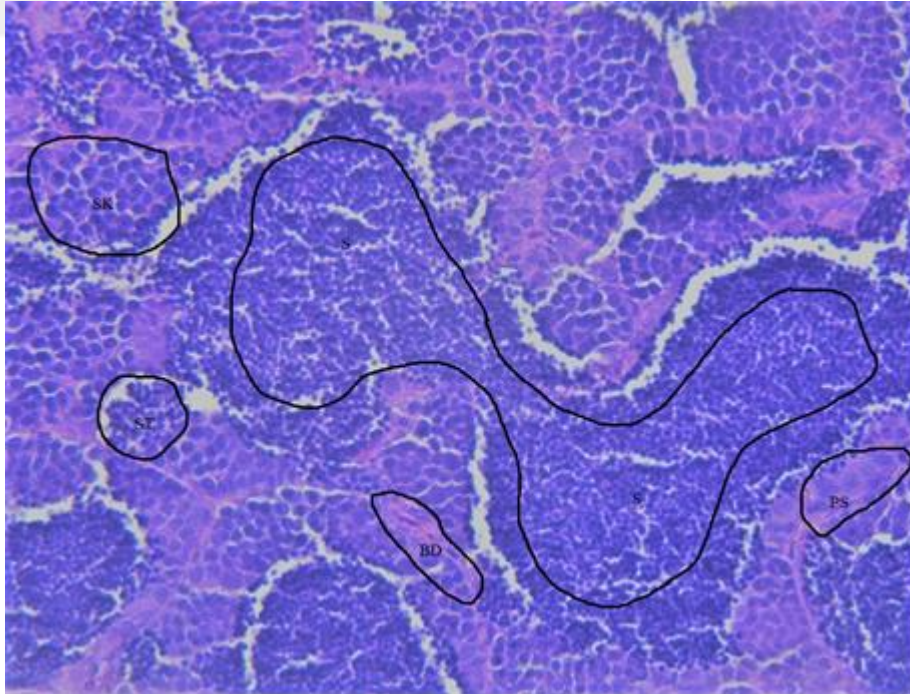
Şekil 4.12. 16µg/L Fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; sperm hücrelerinin kümeleşmesi, bağ dokuda artış, primer spermatosit hücre küme bütünlüğünde bozulma; Primer Spermatosit (PS), Sekonder Spermatosit (SK), Spermatid (ST), Sperm (S), Bağ Doku (BD), H&E Boyama, x100.



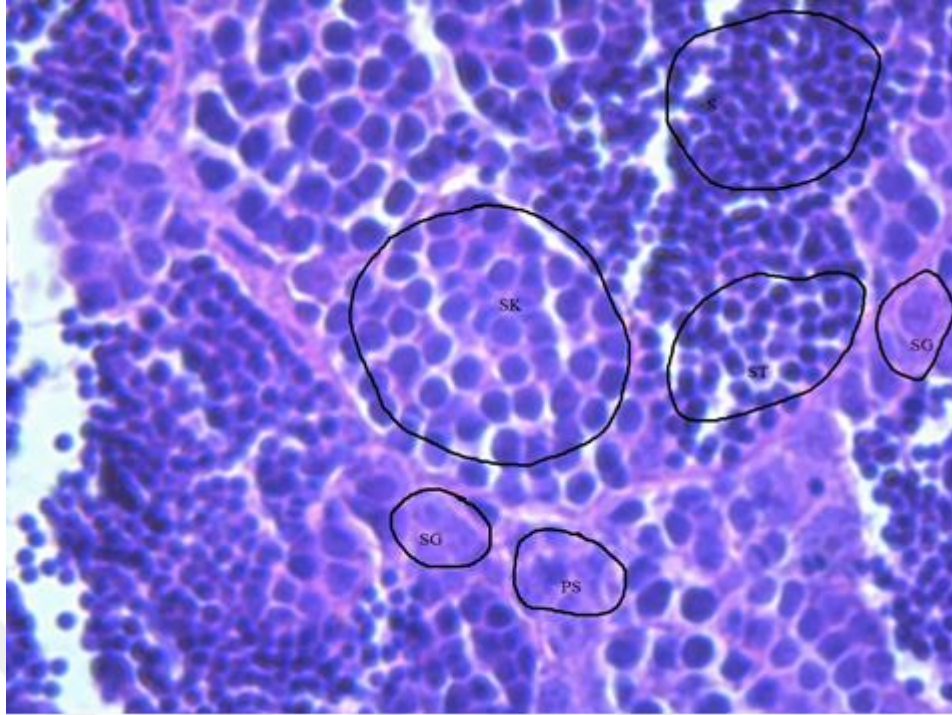
Şekil 4.13. 16µg/L Fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; seminifer tübüllerin yapısında bozulmalar, spermatogonyum (SG) hücrelerinin sayısında azalmalar, bağ dokuda (BD) kalınlaşmalar ⇨ seminifer tübüllerin kaynaşması, spermatjenik hücre kümelerinin iç içe geçmesi ☆ Spermatogonyum (SG), Primer Spermatosit (PS), Sekonder Spermatosit (SK), Spermatid (ST), Sperm (S), Bağ Doku (BD), H&E Boyama, x40



Şekil 4.14. 16µg/L Fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; seminifer tübüllerin yapısal bozulmaları, spermatogonyum hücrelerinde sayıca azalmalar, spermatogenik hücrelerin seminifer tübül içerisinde iç içe kaynaşması Spermatogonyum (S<sup>g</sup>), Primer Spermatosit (PS), Sekonder Spermatosit (SK), Sperm (S), H&E Boyama, x100



Şekil 4.15. 16µg/L Fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; seminifer tübül yapılarındaki bozulma, sperm hücrelerin kümeleşmesi, bağ dokunun artması; Primer Spermatosit (PS), Sekonder Spermatosit (SK), Spermatid (ST), Sperm (S), Bağ Doku (BD) , H&E Boyama, x40



Şekil 4.16. 16µg/L Fluvalinate testis dokusu uygulanmış grup; spermatogonyum hücrelerinde azalmalar, Spermatogonyum (SG), Primer Spermatozoite (PS), Sekonder Spermatozoite (SK), Spermatid (ST), Sperm (S), H&E Boyama, x100

## BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan çalışmamızda Fluvalinate'in zebra balığı testis dokusu üzerinde histopatolojik etkileri incelenmiştir. Kontrol grupları ile doz uygulanan deney grupları arasında farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubunda seminifer tübül ve tübül içerisinde yer alan spermatogenetik hücreler görülmüştür. 8 µg/L Fluvalinate uygulanan deney grubunda seminifer tübül sınırlarında kaybolma, bağ dokuda kalınlaşma, spermatogenez hücrelerinin sayılarında azalma görülmüştür. 16 µg/L Fluvalinate uygulanan deney grubunda ise bağ dokuda kanlanma, seminifer tübül yapılarında bozulma, spermatogonyum ve spermatid hücrelerinde sayıca azalma, sperm hücrelerinde kümeleşme meydana gelmiştir.

Diazon'una maruz kalan *Lepomis macrochirus*'un testis dokusuna olan histopatolojik etkilerini inceleyen çalışmada; sperm hücrelerinde kümeleşme, spermatid hücre yapısı bozulması, seminifer tübüllerin artışı ve yapısının bozulması görülmüştür. Diazona maruz kalmasıyla bağ dokuda zayıflamıştır. Spermatogenez sürecinin ilk aşamasından itibaren hasarlar başlamış sperm oluşumunu engellemiştir (Dutta, 2003). Fluvalinate de balıkların testis dokularına hasarlar vermiş, seminifer tübüllerin yapısını bozmuş, sperm hücrelerinde lümen içerisinde kümeleşme meydana getirmiştir.

Endosulfana maruz kalan *Lepomis macrochirus*'un testis dokusunda seminifer tübüllerin yapısı bozulma, bağ dokuda hasar oluşması, spermatogonyum hücrelerinde azalma görülmüştür. Testis dokusu kontrol grubu ve doz uygulanmış grup ile karşılaştırıldığında düzensiz bir yapıya sahip olduğu görülmüştür (Dutta, 2006). Seminifer tübül ve spermatogonyum hücrelerinde tespit edilen histopatolojik değişiklikler bizim çalışmamız ile benzerlik göstermiştir.

Sipermetrin uygulaması sonucunda *Channa punctatus*'un testis dokusunda histopatolojik değişiklikler meydana gelmiştir. Seminifer tübüllerin yapısında bozulma ve büzülme, lümen içerisinde spermatogenik hücreler arasında vakuolizasyon ve kümeleşme, spermatit hücrelerinin yapısında bozulma meydana gelmiştir (Trivedi ve ark., 2008). Yapılan bu çalışmada elde edilen bulgular bizim çalışmamızdaki bulgular ile uyumludur.

14 gün boyunca Deltametrin'e maruz kalan *Corassius auratus gibela* 'nın sperm sayısında azalma olduğu tespit edilmiştir (Staicu, 2007). Deltametrin'in *Oreochromis niloticus* üzerindeki olumsuz etkileri indirgemek amacı ile E-vitamini uygulaması yapılmıştır. Deltametrin uygulanan grupta spermatogenik hücrelerde sayıca azalma, tübül lümenlerinde sperm sayısında azalma, spermatogonyum hücrelerinde yapısal bozulma görülmüştür. Vitamin E' nin deltametrin tarafından oluşan histopatolojik etkileri kısmen azalttığı , ancak tam koruma sağlanamadığı görülmüştür. Deltametrin ve vitamin E uygulamasında, lümen içerisinde sperm sayısında artış, spermatosit hücrelerinin sayısında azalma görülmüştür. Deltametrin uygulaması yapılan grup, vitamin E uygulanan grup ile karşılaştırıldığında daha çok hasar meydana geldiği görülmüştür (Bayar, 2014). Deltametrinin balık dokularında meydana getirdiği olumsuz etkilerin fluvalinateden daha fazla olduğu görülmüştür.

Grubu bir insektisit olan Fenvalerate'nin *Barbus carnaticus* testis yapısı üzerinde histolojik etkileri Vibhandik ve ark. (2019) tarafından incelenmiştir. Balıklar bu maddeye 24,48,72,96 saat maruz kaldıktan sonra, bu maddenin yüksek derecede toksik olduğu ve yumurtlama potansiyelini düşürdüğü belirtilmiştir. Uygulama süresine bağlı olarak seminifer tübüllerin yapısının bozulduğu, spermatogonyum, spermatid ve sperm hücrelerinde kümeleşme meydana geldiği tespit edilmiştir.

Zebra balığı (*Danio rerio*) 21 gün boyunca karbamezepin, fenofibrik asit, propranolol, sulfametoksazol ve trimetoprime maruz bırakıldıktan sonra testis dokusunda oluşan histopatolojik etkiler incelenmiştir. Kontrol grubuna göre doz uygulanan grupta; sperm sayısında azalma, spermatosit sayısında artış gözlenmiştir. Kullanılan bu maddelerin balıkların olgunlaşma döneminde testis dokusuna zarar verdiği tespit

edilmiştir (Rocha ve ark., 2011). Çalışmamız ile histolojik açıdan benzerlik olduğu, sonuçlar ile paralellik gösterdiği görülmüştür.

Zebra balığı (*Danio rerio*) kullanarak yapılan bir çalışmada sentetik piretroid olan etofenproksun testis dokusunda histopatolojik etkileri incelenmiştir. 48 saat sonra alınan doku örneklerinde bir etki görülmemiştir. 96 saat sonra alınan doku örneğinde sperm hücrelerinin azaldığı, leydig hücrelerinde artış görülmüştür. Doku yapısının bozulup normal fonksiyonunu yapamayacak hale geldiği sonucuna varılmıştır (Ağırbaşı, 2016). Etofenproks çalışmamızda kullanılan Fluvalinate'den daha toksik etki yaratmıştır.

Tez çalışması kapsamında Fluvalinate'in zebra balıklarının testis dokusuna histopatolojik yönden olumsuz etkilediği tespit edilmiştir. Fluvalinate; toksik etkileri ile bilinen fakat histolojik yönden etkileri hala araştırılan bir pestisittir. Farklı organizmalar üzerinde yapılan çalışmalar bu maddenin etkisinin daha iyi anlaşılabilceği düşüncesini göstermektedir.

## KAYNAKLAR

- ABD Çevre Koruma Ajansı, 31 Mart 1986. Pestisit Bilgi Formu : Fluvalinate, ABD EPA, Pestisit Programları Ofisi, Kayıt Div. Washington, DC.
- ABD Tarım Bakanlığı, Toprak Koruma Servisi (FDA), 1990 (Kasım). SCS/ARS/CES Pestisit Özellikleri Veritabanı: Sürüm 2.0 (Özet). USDA- Toprak Koruma Servisi, Syracuse, NY.
- Ağırbaşı, N., 2016. Çevresel Kirleticileri Etofenpoksun Zebra Balığı (*Danio rerio*) 'da Genotoksik ve Histopatolojik Etkilerinin Belirlenmesi, Gazi Üniversitesi.
- Aswin L. Menke, Jan M. Spitsbergen, Andre P.M. Waterbeek and Ruud A. Woutersen, 2011. Normal Anatomy and Histology of the Adult Zebrafish Toxicology Pathology, 39: 759-775.
- Avrupa Birliği; EFSA Dergisi, 2010; 8(7): 1645.
- Barman, R. P., 1991. A taxonomic revision of the Indo- Burmese species of *Danio rerio*. Ecord of the zoological Survey of India Occasional Papers 137. 1-91.
- Bayar A. S., Bilici S., Cengiz E.İ., Satar A., Yanar M., 2014. The effects of Vitamin E supplementantion on ovary and testis histopathology in *Oreochromis niloticus* exposed to deltamethrin, Toxicological & Environmental Chemistry, 96:1, 114-135.
- Delen, N., 2008. Fungisitler, Nobel Yayın Dağıtım. Nobel Yayın No:1360, Ankara.
- Devlin, R.H.& Nagahama, Y., 2002. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological and envitomental influences. Aquaculture 208. 191-364.
- Dutta, H.M., Dalal, R., 2008. The Effect of endosulfan on the ovary of bluegill sunfish a histopathological study (*Lepomis macrochirus* sp.), International Journal of Enviromental Research, 2, 215-224.
- Dutta, H.M.,Meijer H.J.M., 2003. Sublethal effects of diazinon on the structure of the testis of bluegill, *Lepomis macrochirus*: a microscopic analysis, Environmental Pollution 125, 335-360.

- Dutta, H.M., Douglas Misquitta, Sanaullah Khan, 2006. The effects of Endosulfan on the testes of Bluegill fish, *Lepomis macrochirus*: a histopathological study, Archives of Environmental Contamination and Toxicology 51, 149-156.
- EPA (Environmental Protection Agency), 2009. Types of Pesticides. Washington D.C., USA. Online: <http://www.epa.gov/pesticides/about/types.htm>.
- Glaser, A., 2006, Threatened Waters Turning the Tide on Pesticide Contamination, Beyond Pesticides.
- Grunwald, D.J.& Eisen, J.S., 2002. Headwaters of the Zebrafish emergence of a new model vertebrate. Nature Reviews Genetics. S 717-724.
- Gupta, R. C, 2011. Toxicology of Organophosphate and Carbamate Compounds, Elsevier Academic Press, 658p. 'e göre Mayer, F. L. and Ellersieck, M. R., 1986, Manual of Acute Toxicity: Interpretation and Data Base for 410 Chemicals and 66 Species of Freshwater Animals, Washington US Department of Interior, Fish and Wildlife Service, Washington, 506.
- Hand. F., Straalen N.M., 2003, Pesticides, Problems, Improvement, Alternatives, Blackwell Science Ltd., 114.
- Haynes, WM (ed.), 2013-2014. CRC El Kitabı Kimya ve Fizik. 94. Basım. CRC Press LLC. Boca Raton: Fluvalinate, S. 3-278.
- Kamalaveni K., Gopal V., Sampson, U., Aruna, D., 2001. Effect of Pyrethroids on Carbohydrate Metabolic Pathways in Common Carp (*Cyprinus carpio*), 1151-1154.
- Kaya, S., Pirinçci, İ., Traş, B., Ünsal, A., Bilgili, A., Akar, F., Doğan, A., Yarsan, E., 2002. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. 2. Baskı, Medison Yayınevi, Ankara.
- Kidd, H., James, D.R., 1991. The Agrochemicals Handbook, Third Edition, Royal Society of Chemistry Information Services, Cambridge, UK, 2-13.
- Koc, N.D., Teksoz, N., Ural M., Akbulut C., 2012. Histological structure of zebrafish (*Danio rerio*, Hamilton, 1822) testicles. Elixir Aquaculture 46, 8117-8120.
- Kolayanova F., Tarkowski S., 1981. Toxicology of Pesticide. Copenhagen, p 41-123.
- Kris Van Den Belt, Piet W. Wester, Leo T.M. Van Der Ven. Rudi Verheyen and Hilda Witters, 2002. 'Effects of Ethynylestradiol on the Reproductive Physiology in Zebrafish (*Danio rerio*): Time Dependency and Reversibility'. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 21, No. 4, pp. 767-775.
- Ks Mashal, KF Ferri-Lagneau, T Leung, 2010. Zebrafish model: Worth Considering in Defining Tumor Angiogenesis, Trends in Cardiovascular Medicine, 20,4,144-119.

- Kutluyer, F. ve Aksakal, E., 2013. Sucul model organizmalar ve biyoteknolojide kullanımı: Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi, 28:101-107.
- Laale, H.W., 1977. The biology and use of Zebrafish, *Brachydanio rerio* in fisheries research. A literature review. Journal of Fish Biology, s 121-173.
- Leo T.M. Van Der Ven., Piet W. Wester and Jeff G. Vas., 2003. Histopathology As a Tool For The Evaluation of Endocrine Disruption In Zebrafish (*Danio rerio*). Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 22, No. 4, pp.908-913.
- Lewis, RJ Sr. (ed.), 2004. Sax'in Endüstriyel Malzemelerin Tehlikeli Özellikleri. 11. Baskı Wiley-Interscience, Wiley&Sans.Inc. Hoboken, NJ. S. 3656.
- Mac Bean C., 2008-2010. ed; e-Böcek İlacı El Kitabı. 15.Baskı, ver5.1, Alton, İngiltere Bitki Koruma Konseyi Fluvalinate (69409-94-5).
- Maddy, KT ve diğ., 1984 (14 Şubat). Mayıs 1983'te Kaliforniya'da Tulare ilçesinde turuncu yapraklar üzerinde Fluvalinate ayrıştırılabilir bozunma oranlarını bir çalışma. California Gıda ve Tarım Bakanlığı, Sacramento, CA.
- Meister, RT (ed.), 1992. Çiftlik Kimyasalları El Kitabı. Meister Publishing Şirketi, Willoughy, OH.
- Muller F. ve ark; Akarisitler. Ullman'ın Endüstriyel Kimya Ansiklopedisi 7. Baskı (1999-2014). NY. NY: John Wiley & Sans.
- Mugoni, V., Postel, R., Catanzaro, V., De Luca, E., Turco, E., Digilio, G., Silengo, L., Murphy, M.P., Medana, C., Stainier, D.Y., Bakkers, J. ve Santoro, M.M., 2013. Ubiad1 is an antioxidantenzymethatregulate NOsactivityby CoQ10 synthesis. Cell, 152:504-518.
- Nóbrega R.H., 2014. Spermatogonial Stem Cells and Their Endocrine and Paracrine Regulation in Zebrafish. Division of Developmental Biology, Department of Biology, Science Faculty, University of Utrecht, The Netherlands. Doctorate Thesis.
- O'neil, MJ., 2013. Merck Ansiklopedisi. Cambridge, İngiltere: Royal Society of Chemistry, s 773.
- Öden, S., 2009 Pestisitler ve Pestisitlerin Çevre Etkileri (Online): [www.tutuneksper.org.tr/yayın/bulten/bulten77/pestisitler.htm](http://www.tutuneksper.org.tr/yayın/bulten/bulten77/pestisitler.htm).
- Rajesh K. Srivastava, Kamlesh K. Yadav and Sunil P. Trivedi, 2008. Devicyprin induced gonadal impairment in a freshwater food fish, *Channa punctatus* (Bloch) Journal of Environmental Biology, 29(2) 187-191.

- Ridges, S., Heaton, W.L., Joshi, D., Choi, H., Eiring, A., Batchelor, L., Choudhry, P., Manos, E.J., Sofla, H., Sanati, A., Welborn, S., Agarwal, A., Spangrude, G.J., Miles, R.R., Cox, J.E., Frazer, J.K., Deininger, M., Balan, K., Sigman, M., Müschen, M., Perova, T., Johnson, R., Montpellier, B., Guidos, C.J., Jones, D.A. ve Trede, N.S., 2012. Zebrafish screen identifies novel compound with selective toxicity against leukemia. *Blood*, 119:5621- 5631.
- Sarras, M.P., Leontovich, A.A. ve Intine, R.V., 2015. Use of zebrafish as a model to investigate the role of epigenetics in propagating the secondary-complications observed in Diabetes mellitus. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 178:3-7.
- Schilling, T., 2002. The morphology of larval and adult Zebrafish. In *Zebrafish*. (eds. C. Nüsslein Volhard & R. Dahm) pp. 59-94. Oxford: Oxford University Press.
- Schulz RW, França LD, Lareyne JJ, Legac F, Garcia HC, Nobrega RH, Miura T., 2010. Spermatogenesis in fish. *General and Comp Endocri*. 165(3): 390-411.
- Solomon, Keith, R., Giddings, Jefferey, M. and Maund, Stephen, J., 2001. Risk Assessment of Cotton Pyrethroids, I. Distributional Analyses of Laboratory Aquatic Toxicity Data, *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 20, No. 3, 652-659.
- Staicu A.C., Munteanu M.C., Costin D., Costache M., Dinischiotu A., 2007. Histological changes in deltamethrin- induced intoxication in *Carassius auratus gibelio* (Pisces- Cyprinidae). *Biotechnol Anim. Husb*. 23:619-626.
- Şeftalioğlu A., 1998. İnsan Embriyolojisi, Feryal Matbaası, Ankara, 620 s.
- Şişman, T., 2007. Poliklorlu Bifenil Bileşiklerinin *Danio rerio* (Zebra Balığı) Gelişimi Üzerine Etkileri. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Doktora Tezi.
- Tania Vieira Madureira, Maria Joao Rocha, Catarina Cruzeiro, Maira Helena Galante, Rogerio A.F. Monteiro, Enduaro Rocha, 2011. The toxicity potential of pharmaceuticals found in the Douro River estuary (Portugal): Assessing impacts on gonadal maturation with a histopathological and stereological study of zebrafish ovary and testis after sub-acute exposures. *Aquatic Toxicology* 105, 292-299.
- Tomlin, C., 1995. The Pesticide Manual, Crop Protection Publications, 1341.
- Toros S. ve Maden, S., 1991. Tarımsal Savaşım Yöntem ve İlaçları, Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yay. NO: 1222, Ders Kitabı No:332, 352.
- Tsuzuki M., 2001. *Chemosphere* 45: 729-736.

U.S. Enviromental Protection Agency, 2005. Pesticide Fact Sheet Number 86, Fluvalinate, Office of Pesticides and Toxic Substances, Washington, DC,2-39.

Vibhandik A.M., Gaikwad R.B., Wani G.P., 2019. Fenvalerate Induced Changes in Histological Structure of Gonads of Freshwater Teleost Fish *Barbus carnaticus*. Themed Section: Science and Technology. Volume 6/ Issue 2/ Print ISSN: 2395-6011.

Vural N., 1984. Toksikoloji, Ankara, A.Ü. Basımevi.

Yalçinkaya M., 2013. The Determination Of Acute Effects Of Fluvalinate On Guppies (*Poescilia reticulata*), Hacettepe Üniversitesi.

Zebrafish Information Network (ZFIN), The Zebrafish International Resource Center, University Of Oregon, Eugene, OR 97403-5274; <http://zfin.org/>, Erişim Tarihi: 26 Şubat 2019.

## ÖZGEÇMİŞ

Ceyda ÖZTÜRK, 01.11.1993 yılında Balıkesir'in Burhaniye ilçesinde doğdu. İlköğretim eğitimini Mustafa Keskin İlköğretim Okulu'nda, lise öğrenimini 2007 yılında başladığı Burhaniye Lisesi'nde tamamladı. 2011 yılında lisans eğitimine Sakarya Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde başlamış olup 2015 yılında bitirmiştir. 2016 yılında başladığı Yüksek Lisans eğitimine halen devam etmektedir.