

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MANCOZEB'İN ZEBRA BALIĞI
(*Danio rerio*) OVARYUM HÜCRELERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Elif UZUN

Enstitü Anabilim Dalı : BİYOLOJİ

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Nazan Deniz YÖN ERTUĞ

Eylül 2019

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MANCOZEB'İN ZEBRA BALIĞI
(*Danio rerio*) OVARYUM HÜCRELERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

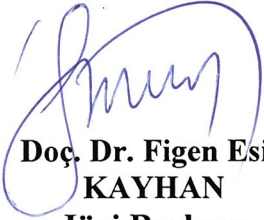
Elif UZUN

Enstitü Anabilim Dalı

:

BİYOLOJİ

Bu tez 06.09.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği / oyçokluğu ile kabul edilmiştir.


Doç. Dr. Figen Esin
KAYHAN
Jüri Başkanı


Doç. Dr. Nazan Deniz
YÖNERTUĞ
Üye


Dr. Öğr. Üyesi Ali
DOĞRU
Üye

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.

Elif UZUN
06/09/2019

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimime başladığım günden bu yana kendisiyle çalışmaktan büyük onur duyduğum, yalnızca bilgisiyle değil her konuda destek sağlayan ve yol gösteren değerli danışman hocam Doç. Dr. Nazan Deniz YÖN ERTUĞ'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tezime başladığın günden itibaren desteklerini ve bilgilerini esirgemeyen Sayın Arş. Gör. Dr. Cansu AKBULUT ve Arş. Gör. Tarık DİNÇ hocalarıma, ayrıca laboratuvar çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen Merve ABAR ve Büşra FİDAN çok teşekkür ederim.

Büyük fedakarlıklarla her zaman sonsuz sabır, sevgi ve destekleriyle yanımda olan yaşam kaynağım canım ailem; annem Emine ÇAK, babam Yılmaz ÇAK ve varlığı ile bana huzur, mutluluk veren canım oğlum Ahmet Safa UZUN'a çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	v
TABLolar LİSTESİ	vi
ÖZET	vii
SUMMAR.....	viii
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2.	
KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	2
2.1. Pestisitler.....	2
2.1.1. Pestisitlerin genel özellikleri.....	2
2.1.2. Pestisitlerin sınıflandırılması	3
2.1.3. Ditiyokarbamatlı pestisitler.....	3
2.1.3.1. Mancozeb	4
2.1.3.2. Mancozeb'in fiziksel ve kimyasal özellikleri	5
2.1.4. Pestisitlerin canlılar üzerine etkileri	6
2.2. Balıklarda Gonad Yapısı	9
2.2.1. Ovaryum	9
BÖLÜM 3.	
MATERYAL VE YÖNTEM	12

3.1. Materyal	12
3.1.1. Zebra balığı (<i>Danio rerio</i>).....	12
3.1.2. Ortam koşulları	13
3.2. Yöntem.....	14
3.2.1. Ovaryum dokularının histolojik incelenmesi.....	14
3.2.1.1. Fiksasyon (tespit etme)	14
3.2.1.2. Dehidrasyon	14
3.2.1.3 Boyama	15
BÖLÜM 4.	
ARAŞTIRMA BULGULARI	18
4.1. Kontrol Grubu Ovaryum Histolojisi	18
4.2. Deney Grubu Ovaryum Histolojisi	19
4.2.1. 5 ppm deney grubu.....	19
4.2.2. 7,5 ppm deney grubu.....	22
BÖLÜM 5.	
TARTIŞMA.....	25
KAYNAKLAR.....	29
ÖZGEÇMİŞ	36

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

EBDC	: Etilenebisdithiocarbamates
ppm	: Milyonda bir
µm	: Mikrometre
°C	: Santigrat
g	: Gram
mL	: Mililitre
PAS	: Periyodik Asit Schiff
HE	: Hemotoksilen Eozin
ETU	: Etilen Tiyo Üre
HCT	: Hematoksit
CAS	: Chemical Abstracts Service Number
EBİS	: Etilen Bisizotiya Siyanat Sülfid
GV	: Germinal Vesikül
PO	: Primer Oosit
CAO	: Kortikal Alveoler Oosit
Ca	: Kortikal alveol
VO	: Vitellojenik Oosit
Oo	: Olgun Oosit
N	: Nükleus
O	: Ooplazma
FE	: Folikül Epitelyum
Kp	: Karyoplazma
ZR	: Zona Radiata
VE	: Vitellin Zar
AT	: Atretik Oosit

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Mancozeb yapısal formül.....	5
Şekil 2.2. Folikül hücre yapısı	10
Şekil 2.3. Ovaryum foliküler gelişim evreleri,.....	11
Şekil 2.4. Dişi zebra balığı (<i>Danio rerio</i>)	12
Şekil 4.1. Zebra balığı ovaryum dokusunun genel görünümü.	18
Şekil 4.2. 5 ppm mancozeb grubu ovaryum dokusu.	19
Şekil 4.3. 5 ppm mancozeb grubu ovaryum dokusu	20
Şekil 4.4. 5 ppm mancozeb grubu ovaryum dokusu	20
Şekil 4.5. 5 ppm mancozeb grubu ovaryum dokusu.	21
Şekil 4.6. 5 ppm mancozeb grubu ovaryum dokusu.	21
Şekil 4.7. 5 ppm mancozeb grubu ovaryum dokusu	22
Şekil 4.8. 7,5 ppm mancozeb doz grubu ovaryum dokusu	23
Şekil 4.9. 7,5 ppm mancozeb doz grubu ovaryum dokusu	23
Şekil 4.10. 7,5 ppm mancozeb doz grubu ovaryum dokusu	24
Şekil 4.11. 7,5 ppm mancozeb doz grubu ovaryum dokusu.	24

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 3.1. Bouin solüsyonunun hazırlanışı.....	14
Tablo 3.2. Dehidrasyon aşamaları.....	15
Tablo 3.3. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi.....	16
Tablo 3.4. Masson Trikrom boyama yöntemi.....	16
Tablo 3.5. Periodic Acid Schiff. (PAS) boyama yöntemi.....	17

ÖZET

Anahtar kelimeler: Zebra Balığı, Mancozeb, Ovaryum, Histoloji, Pestisit

Pestisitler, tarım ürünlerinin üretim, depolama ve tüketimi sırasında tarım ürünlerine zarar veren veya besin değerini düşüren böcekler, hayvanlar, mikroorganizmalar, yabani otlar ve diğer zararlı canlıların ölmesini sağlayan veya bu canlıların tarım ürünlerine verdikleri zararları azaltan kimyasallar olarak tanımlanmaktadır. Mancozeb, bir etilen bisditiyokarbamat (EBDC) pestisitidir ve bu pestisitler mantar kaynaklı hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Yaptığımız çalışmada Mancozeb'in Zebra balıklarındaki (*Danio rerio*) ovaryum dokularına etkisi incelendi.

Zebra balıkları Mancozeb'in farklı dozlarına (5 ppm, 7,5 ppm) maruz bırakıldı. Histolojik analiz için, ovaryum dokularındaki histopatholojik değişiklikler ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Kontrol grubunda normal ovaryum histolojisi gözlemlendi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney gruplarında gelişen oosit sayılarında azalma, oositlerde deformasyon gözlemlendi.

EFFECTS OF MANCOZEB ON ZEBRAFISH (*Danio rerio*) OVARY CELLS

SUMMARY

Keywords: Zebrafish, Mancozeb, Ovary, Histology, Pesticides

Pesticides are defined as chemicals that damage or damage the crops, animals, microorganisms, weeds and other harmful organisms that damage or damage their crops during production, storage and consumption of agricultural products. Mancozeb is an ethylene bisdithiocarbamate (EBDC) pesticide which is used in the treatment of fungal diseases. maternal toxicity, embryotoxicity and characteristics cause teratogenic effects. Our studies of mancozeb in the zebrafish (*Danio rerio*) examined the effects of the ovary tissue.

Zebra fish were exposed to different doses of Mancozeb (5 ppm, 7.5 ppm) and histopathological changes were observed. For histological analysis, histopathological changes in ovarian tissues were examined under light microscopy. Normal ovarian histology was observed in the control group. A decrease in the number of oocytes in experimental groups and deformations in oocytes were observed when compared with the control group.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Günümüzde, tarımsal üretimde sorun olan hastalık, zararlı ve yabancı otların olumsuz etkilerinden ekonomik olarak korunabilmek için kimyasal mücadele olarak pestisitler kullanılmaktadır. Tarımsal ilaçların kullanımı bir taraftan tarımsal üretimi arttırırken diğer yandan bilinçsiz ve hatalı kullanım sonucu doğrudan ya da dolaylı olarak insan ve çevre sağlığını tehdit edebilmektedir. Mancozeb, bir etilen bisditiyokarbamat (EBDC) pestisitidir ve bu pestisitler mantar kaynaklı hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Mancozeb tarımsal alanlarda tercih edilen bir ditiyokarbamat türüdür (Srivastava ve Singh, 2013).

Zebra balığı (*Danio rerio*), gelişimsel genetik ve ekotoksikoloji alanında çok popüler bir model organizma olarak kabul edilen küçük bir tropikal balıktır. Üretilmesi kolay olduğu için zebra balığı modeli giderek daha popüler hale gelmektedir. Streisinger (1981), üreme işlevlerinin incelenmesi bakımından Zebra balığı; söz konusu türün kolayca bulunabilmesi ve beslenmesinin de kolay olması, yüksek fekondite göstermesi (ergin dişiler haftalık aralıklarla yüzlerce yumurta bırakır), dış döllenmeyle üremesi, jenerasyon zamanının kısa oluşu (3-4 ay), hızlı gelişmesi, embriyolarının yarı saydam oluşu gibi avantajların çoğuna sahip olduğunu belirtmiştir. Günümüzde Zebra balığı (*Danio rerio*) insan ve diğer omurgalıların hastalıklarının araştırılmasında model organizma olarak kullanılmaktadır.

Yapılan bu araştırmada bir pestisit türü olan Mancozebin Zebra balıklarının (*Danio rerio*) ovaryum dokusu üzerine göstermiş olduğu histopatolojik etkileri ve değişimleri ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Primer oositlerde, kortikal alveoler oositlerde ve vitellojenik oositlerde morfolojik deformasyonlar, folikül epiteli ve zona radiata arasında ayrılmalar, vakuolizasyon gibi değişimler meydana gelmiştir.

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Pestisitler

2.1.1. Pestisitlerin genel özellikleri

Pestisitler, istenmeyen böcek, mikroorganizma, yabancı ot ve zararlıları öldürmek, ortadan kaldırmak ve azaltmak için kullanılan fiziksel, kimyasal veya biyolojik aktif maddelerdir. Bitki veya diğer canlılara zarar veren küçük hayvan, böcek, bitki gibi zararlıları öldürmek, etkisiz hale getirmek, ortamdan uzaklaştırmak amacıyla kullanılmaktadır. Pestisitler bir bitkiye verildiklerinde sadece o bitki yüzeyinde ya da yapısında kalmazlar. Farklı yollarla doğaya yayılırlar. Buharlaşarak, rüzgârla taşınarak, yağmurla birlikte yer altı sularına ya da yüzey sularına karışarak sadece uygulandığı bölgeye değil, çok daha uzak mesafelere taşınabilmektedirler.

Pestisitlerin doğaya yayılmaları ve kalıcılıkları ışık, su, ortamın asitliği ya da toprağın özelliklerine bağlı olarak değişebilmekte, çok hızlı bir şekilde bozulabilmekte ya da aksine kalıcılıkları daha da artabilmektedir. Pestisitlerin kullanıldığı bölgelerde yaşayan canlılarda ortamdaki pestisit miktarlarının artmasında rol oynayabilirler. Suda çok iyi çözünen pestisitler suda bulunan bir organizma tarafından alınarak biriktirilebilir. Eğer bu organizma daha yüksek bir canlı tarafından örneğin bir balık tarafından alınırsa ve bu canlı da o pestisiti biriktirebilme özelliğine sahipse, o zaman pestisit miktarı çok daha fazla artacaktır (EPA,2005). Tüm bu süreçler sonunda besin zincirinin en üstünde olan insan bu en yüksek miktarda pestisit içeren besinleri tüketebilir. Çevreye yayılan bu pestisitler, su, bitki, hayvan ya da farklı organizmalarda birikerek besin zincirinin en üstünde olan insana yüksek dozlarda geçebilir. Doğada su ve toprakta birikime uğrayan pestisitler, aynı zamanda hayvan eti, yumurta, süt gibi gıdalarda da birikerek insan sağlığını olumsuz etkileyebilmektedir (Güler, Ç.,& Çobanoğlu, Z. (1997)).

2.1.2. Pestisitlerin sınıflandırılması

Pestisitler görünüşlerine, fiziksel yapılarına, formülasyon şekillerine, etkiledikleri zararlı ve hastalık grubu ile bunların biyolojik dönemine, içerdikleri aktif madde cins ve grubuna göre çeşitli şekilde sınıflandırılmaktadır. Hedef alınan organizmaya göre; Akarisitler (akarları öldüren pestisitler), İnsektisitler (böcekleri öldüren pestisitler), Nematisitler (nematotları öldüren pestisitler), Rodentisitler (fare gibi kemirgenleri öldüren pestisitler), Fungusitler (bitki üzerindeki mantarları öldüren pestisitler), Herbisitler (yabancı otları öldüren pestisitler) olarak gruplandırılır. Bileşimindeki etkili madde grubuna göre; Klorlandırılmış hidrokarbonlar, Organik fosforlu pestisitler ve Karbamatlı insektisitler olarak sınıflandırılmıştır. Klorlandırılmış hidrokarbonlar, karbon, hidrojen ve klor atomları içeren basit bir kimyasallardır. Organik fosforlu pestisitler, dünyada pestisit tüketiminin çoğunu bu grup bileşikler oluşturur. Sentezlenmelerinin kolaydır ve bu kolaylık organik fosforlu bileşiklerin çeşitlenmesine sebep olur. Karbamatlı insektisitler ise karbamik asit esterleri olan bu grup insektisitler organik fosforlu insektisitlere göre daha küçük bir sınıf oluşturur. Kimyasal olarak asetilkolinesteraz enzimine bağlanırlar. Karbamatların canlı vücudundaki etkisi organofosfatlardaki gibi asetilkolinesterazı deaktive ederek olur (Kolayanova 1981).

2.1.3. Ditiyokarbamatlı pestisitler

Ditiyokarbamatlı pestisitler, Avrupa Birliği ülkelerinde domateslere sıklıkla uygulanan pestisitler grubunda ikinci sırada yer almaktadır. Bu gruptaki pestisitlerin toksikolojik önemi ısıt uygulamalarla dönüştükleri kanserojenik etilentiyoüre ile ilişkilidir. Ditiyokarbamatlar, fungusitlerin en önemli üyesi olup, aynı zamanda ülkemizde en çok kullanılan 7 fungusidin 4'ü (mancozeb, propineb, thiram ve maneb) bu grupta yer almaktadır. 2006-2008 yılları arasında en fazla satılan pestisitler arasında mancozeb, thiram ve propinebin bulunduğu belirtilmektedirler (Delen, 2005).

Su ve oksijen mevcudiyetinde etilentiyoüre (ETU) kendiliğinden bozulur. Metaboliti etilentiyoüre (ETU) zemin suyunu kirletmek için yeterli potansiyele sahiptir (Srivas ve Singh, 2013). EBDC'ler mukoza zarları, solunum yolu ve gastrointestinal kanallar tarafından absorbe edilir ve hepatik mikrozomal enzimler yoluyla Etilen tiyoüre (ETU)'ye metabolize olur. ETU gastrointestinal sistem yoluyla çabucak emilir ve daha sonra böbrekler tarafından filtrelenir. ETU, merkezi ve periferik sinir sistemini etkiler ve endokrin bozulmaya neden olur (Solomon ve ark., 2000). Birçok çalışmada da ETU' nun kanserojen olduğu belirtilmiştir. Ayrıca ETU' nun teratojenik ve genel tahriş edici madde olduğu belirtilmiştir (WHO 2005).

2.1.3.1. Mancozeb

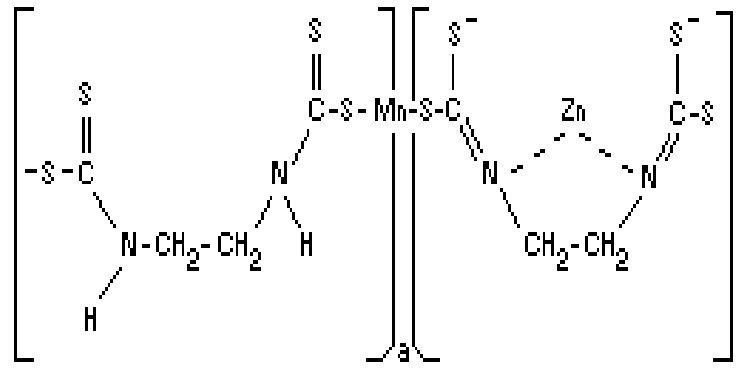
Etilen-bis-ditiyokarbamat'dan (EBDC) oluşan manganez çinko kompleksi olan bir fungusittir. Manganit, ditiyokarbamatlar denilen karbamatlı böcek ilacının bir alt sınıfındandır. 70 bitki ve 400 farklı hastalığa karşı aktiftir (Leader ve ark., 2008). Yarı ömrü 1-7 gündür ve hidrofobik yapıdadır. Delen ve arkadaşları (2010), 2006-2008 yılları arasında en fazla satılan pestisitler arasında ditiyokarbamat pestisit olan mancozeb belirtmektedirler. Mancozeb, Dithane, Manzeb, Nemisport ve Manzane ticari isimleriyle pazarlanmaktadır.

Karışım patates, domates, soğan, kuşkonmaz, üzüm, kabakgiller yaprak üzerindeki mantar hastalığında kullanılır. Mancozeb yapraklar tarafından emilerek köklere kadar inebilmektedir (Atamanalp, 2003). Zehirli ya da kanserojenik etkilere sahiptirler. Asidik ortamda bozunarak ve ısı bozunmaları sonucunda da etilen tiyoüre (ETU) oluşturmaktadır (Osaba ve ark., 2002). Pişirilen besin maddeleri ile birlikte bir miktar ETU'nun bozunmaya fırsat bulamadan vücudumuza girme riski oldukça yüksektir (Humeres ve ark., 1999). EBDC'ların yaygın olarak kullanılmasının en önemli nedeni aynı hastalıkların tedavisinde kullanılan diğer ilaçlara nazaran daha ekonomik olmalarıdır (Ripley ve Cox,1978).

Mancozeb, ihmal edilebilir bir buhar basıncına ve çevrede uçucu olma potansiyeline sahiptir (Ligocki ve Pankow,1989; Linde, 1994). Mancozeb, nemli ortamlarda Etilentiyoüre (ETU), Etilen üre (EU) ve Etilen bisizotiya siyanat sülfid (EBİS) gibi metabolitlerine hidrolize olur. Metabolitlerinden Etilen tiyoüre (ETU) en fazla toksikolojik etkiye sahiptir. ETU, 3 günün altında yarılanma ömrü ile glisin ve EU'ye hızlıca fotooksitlenebilmektedir (Houeto ve ark., 1995). Hidroliz, oksidasyon, fotoliz ve metabolizma ile çevrede hızla bozunur. Etilen tiyoüre, etilendiamin ve karbon disülfidden oluşmaktadır.

2.1.3.2. Mancozeb'in fiziksel ve kimyasal özellikleri

Mancozeb'in ampirik formülü; $(C_4H_6MnN_2S_4)_x (Zn)_y$ ($x : y \approx 10 : 1$), moleküler ağırlık (265,3) + (65,4), erime noktası; 192 – 194 °C, çözünürlük; Su; 6 mg/L 25°C (Heller and Herner, 1990), 16 mg/L 25°C (R&H Company, 1987a), 6-20 mg/L 25°C (IAO, 1997), buhar basıncı; $< 10^{-5}$ mm Hg $< 10^{-7}$ mm Hg (R&H Company, 1987) olarak belirtilmiştir. Mancozeb kimyasalının CAS numarası ise 8018-01-7 (Chemical Abstracts Service Number) olarak belirlenmiştir.



Şekil 2.1. Mancozeb yapısal formül (Srivastava and Singh, 2013)

2.1.4. Pestisitlerin canlılar üzerine etkileri

Endüstriyel kimyasallar; endüstriyel amaçlar için üretilmiş kimyasallar, pestisitler zararlı organizmalardan korunmak amacı ile kullanılan madde ya da karışımlardır. Bazı endüstriyel kimyasallara maruz kalındığında kalıcı hasarlar meydana gelebilmektedir. (Vural, 2005). Endüstriyel gelişim, insan hayatındaki avantajların yanında, toplumu, insan yapımı kimyasallar, pestisitler, gübreler gibi etmenlere ciddi oranda bağımlı hale getirmiştir (Schneider, 2010).

Kaliteli ürün elde etmek amacıyla pestisitler yoğun olarak kullanılmaktadır. Tarımsal mücadelede kullanılan pestisitler hedef organizmaları yok ederken, aynı zamanda, hedef olmayan canlılarda da hasarlara yol açmaktadırlar (Vural, 1984).

Yüzey sularının, böcek öldürücü veya zirai ilaç ile kirlenmesi su canlıları özellikle balıklar üzerinde kötü etkilere neden olduğu bilinmektedir (Kuçukgul ve ark. 2013). Balıklar pestisitlere deri yolu, solunum yolu (solungaçlar) ve ağız yolu olmak üzere doğrudan maruz kalabilirler. Pestisitlerin balıklar üzerindeki etkilerini bileşiklerin biyokonsantrasyon (biyobirikim) ve çevredeki kalıcılık oranları belirler. Bazı balık türleri lipit dokuda birikim eğiliminde olan pestisitleri vücutlarında 10 milyon kat daha fazla miktarda yoğunlaştırabilir ve son tüketici insanlarda zehirlenmelere ve sağlık problemlerine sebep olmaktadır (Keithmaleesatti ve ark., 2012).

Balıklar enzim ve hormon sistemlerini bozan kimyasallara karşı duyarlı canlılardır. Pestisitlere maruz kaldıklarında veya düşük dozlarda kronik olarak maruz kalmaları sonucunda davranış bozukluğu, üreme sistemi problemleri ve fizyolojik bozukluklar gibi önemli etkiler ortaya çıkabilmektedir (Kegley, 1999). Karaciğer, kan damarları, böbrekler ve solungaçlar balıklarda pestisit maruziyeti sonrası en çok zarar gören organlardır (Murthy ve Kiran, 2013).

Pestisitler su canlıları tarafından epidermis, solungaç epiteli ve sindirim sistemi yollarıyla canlı organizmaya alınırlar. Bu kimyasal maddeler vücutta asimile olana kadar çok sayıda biyolojik membranları geçerler. Bu biyolojik membranların ve toksik bileşiklerin yapısı organizmaya girişi etkileyen ve kontrol eden önemli faktörlerdir. Örneğin küçük molekülü ve yağda çözünen maddeler organizmaya pasif difüzyon yoluyla alınırlar. Pestisitler biyolojik birikimle canlıların vücutlarında yoğunlaşabilir. Pestisit birikiminin en fazla olduğu nötr yağ dokusudur. Klorlu pestisit miktarının yağ dokusunda karaciğer dokusundan daha fazla, dieldrin pestisit miktarının ise yağ dokuda kan dokuya oranla oldukça fazla olduğu belirtilmektedir (Koren, 1996).

Pestisitler canlıları olumsuz etkileyen kimyasal etkenlerdendir ve beyin sağlığını etkilemekte ciddi nörolojik komplikasyonlara yol açmaktadır (Güler ve Çobanoğlu, 1997). Özellikle nörolojik sistemde de olumsuz etkileri oldukça fazladır. Fetal yaşamdan itibaren tarım ilaçlarının insanlar üzerindeki olumsuz etkileri görülmeye başlamaktadır. Yapılan hayvan deneylerinde ise radyoaktif işaretli ilaç verilmesinden 5 saat sonra ilacın plasentaya geçtiği, fetüsün göz, sinir sistemi ve karaciğerine de yayıldığı gözlenmiştir (Curley, 1977). Tarım ilaçlarının kanda eritrosit ve lökositlere olan zararlı etkileri de yapılan hayvan deneylerinde gözlenmiştir. Organofosforlu insektisitler eritrositlerin membran özelliklerini bozarak eritrosit fonksiyonlarını engellemektedir (Weizma, 1992). Pestisitler asetilkolinesteraz enzimini inhibe edebilmekte, solunum kontrol merkezlerinin baskılanması ile canlının ölümüne neden olmaktadır (Pope, 1992). Vücuda alınan kimyasallar değişik organlarda toksik etki oluşturabilir.

Toksisiteyi belirleyen; doz, kimyasalın özelliği ve birey kimyasallara olan duyarlılığıdır. Genel olarak düşük dozlarda toksisite görülmemesine rağmen doz arttıkça toksisite de artar. Diğer taraftan düşük dozlarda aynı kimyasala sürekli maruz kalan canlılarda kimyasalın özelliğine göre uzun sürede olumsuz etki görülür. Pestisitlerin canlılarda sinir sistemi dışında üreme sistemini, kan yapımını, karaciğer, endokrin sistem, boşaltım sistemi gibi sistemlerine etkileyebileceğini gösteren çalışmalarda bulunmaktadır (Lemos ve ark., 2005).

Pestisitler farklı doz ve sürelerde vücut ve organ ağırlıklarını etkileyebilmektedir. Ladics ve arkadaşlarının (1994) yaptığı bir çalışmada metilkarbamat pestisitini erkek sıçanlara oral, deri ve solunum yollarıyla verdiklerinde pestisit dozuna bağlı olarak timüs ağırlığında azalmalara neden olduğunu belirtilmiştir.

Pestisit gibi kirleticiler balıklar üzerinde de önemli toksikolojik lezyonlara sebep olmaktadır. Tarımsal kimyasallar balık karaciğerinde hiperemi (kan hücumu), yağlanma, damar ve sinozoitlerde tıkanma, hepatosit yapısında değişim, glikojen deposunda artış gibi olumsuzlukları meydana getirdiği belirtilmiştir. Dimetil sülfoksit maruz kalan, alabalıklarda dalakta hücrel değişimler gözlenmiştir (Pete ve ark., 1968). Mirex kimyasalının ise sazangillerde safra kesesinde şişme gibi belirtilerin olduğu göstermiştir. (Smith ve Piper, 1972). Klorfenvinfos ve fosklor pestisitlerin *Coturnix coturnix japonica* eritroblastlarında artışa, lökosit sisteminde nötrofilik lökositoz ve eozinopeni gibi olumsuz etkilerin olduğu belirtilmiştir (Gromysz ve ark., 1985). Sucul çevrelere dökülen ve karışan birçok kirletici teleostların üreme yeteneklerini kayda değer boyutlarda baskılayabilir, hormonal ve homeostatik sistemlerde değişimler meydana getirebilir. Pestisitler, balıklar için direkt olarak öldürücüdür ve ortaya çıkan olumsuz etkileri üreme işlevlerine zarar verir (McKinlay ve ark., 2008). Yapılan bir çalışmada organofosforlu pestisitlerden malathionun *Channa punctatus*'un ovaryumları üzerine etkileri incelendiğinde, kontrol grubundan farklı olarak maruziyet sonrasında olgun oositlerin boyutunda küçülme, sitoplazmada parçalanma olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada ovaryumun normal yapısının tamamen kaybolduğu, nekroz, uzamış ve parçalanmış foliküller gibi anomali bulguları kaydedilmiştir (Magar ve Bias, 2013).

Çeşitli pestisitler hematolojik birimleri ve lökosit sistemini de olumsuz şekilde etkileyebilmektedir. Karbamatlı bir pestisit olan klorpropamin sıçanlarda uygulandığında WBC (lökosit) sayısını arttırdığı ve RBC (eritrosit) sayısı, Hb (hemoglobin) ve HCT (Hematokrit) seviyelerini düşürdüğü belirtilmiştir (Szubartowska ve Gromysz, 1992).

2.2. Balıklarda Gonad Yapısı

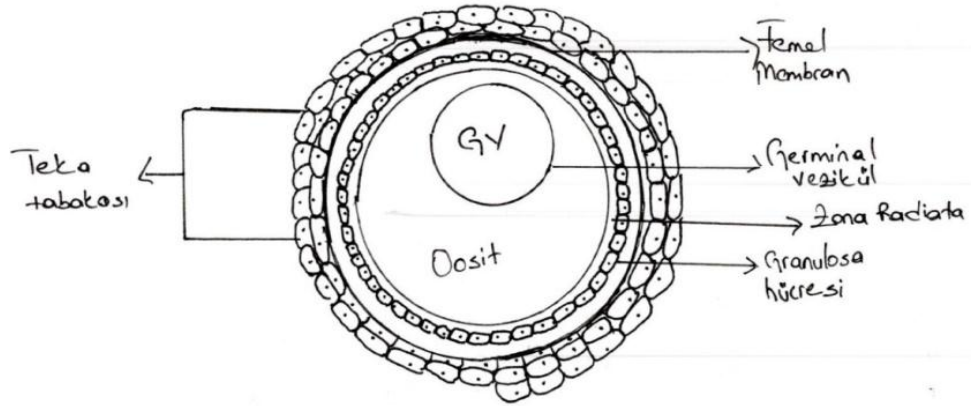
Balıklarda gonadlar, anatomik olarak peritonal kıvrımlarla sarılmış bir çift mezenteriumla (Çeşitli karın organlarını karın duvarına asan çift tabakadan oluşmuş periton kıvrım) vücut boşluğuna asılı bulunurlar ve genellikle posterior uçta birleşerek dışarı açılırlar. Balıklarda gonadlar karın boşluğunun dorsalinde uzunlamasına bir çift olarak oluşur ve çoğunlukla çift olarak kalır. Bazen gelişme esnasında iki gonadın birleşmesi ya da diğerinin körelmesi sonucu tek kalabilir. Balıklarda üreme sistemleri; gonadlar, gametler, iletim kanalları ve yardımcı yapılardan oluşmaktadır. Balıklarda üreme organları, dişilerde ovaryum ve erkeklerde testisleri içermektedir. Testis ve ovaryumun her ikisine de gonad ismi verilmektedir. Vücut boşluğunun dorsal duvarına (mezovarium) bağlı ve böbreklere bitişik şekildedirler.

2.2.1. Ovaryum

Çok sayıda yumurta bırakan balıklarda da gonad histolojisi açısından özellikle ovaryumlar önemli yer kaplamaktadır. Ovaryum, omurgalılarda küresel ya da uzun torba şeklindedir. İçlerinde büyük lenf boşlukları vardır. Ovaryumlarda, bir korteks ve bir medulla ayırt edilmektedir. Bağ dokusu, kan damarları, kas ve sinir medulla kısmında bulunmaktadır. Yumurta ana hücreleri, folikül hücreleriyle sarılmış oositler, hormon üreten hücreler, germ hücrelerini meydana getiren germinel epitel ise korteks kısmında bulunmaktadır.

Kemikli balıklarda ovaryumlar çift ve kesemsi yapıdadır. Ortalarında bir lümen (boşluk) bulunur. Gelişmekte olan yumurtalar folikülün merkezine yerleşir. Folikül hücre tabakası, bir iç tabaka ve teka hücrelerinin oluşturduğu bir dış tabaka ile granulosa hücre tabakasından oluşmaktadır.

Teka ve granulosa tabakaları bir ince zar tarafından ayrılmaktadır. Oositlerin yüzeyi ile granulosa hücre tabakası arasındaki tabakaya zona radiata adı verilmektedir (Şekil 2.2.).



Şekil 2.2. Folikül hücre yapısı ,Germinal vezikül (GV)

Oogenezis süresince primer evresi, kortikal-alveolar evre, vitellojenik evre ve olgunluk evresi olmak üzere dört evre ayırt edilir (Şekil 2.3.). Primer büyüme aşamasında oositler büyümeye başlar. Nukleusları sitoplazmaya oranla çok büyüktür. Oositlerin şekilleri genellikle yuvarlak veya ovaldir, kromatin materyali belirgindir. Kortikal alveoller oosit içinde birikmeye başladığında, kortikal alveol evre olarak adlandırılır. Hücre zarının altında alveollerin görülmeye başlaması ile tanımlanmaktadır. Bu evrede, oosit plazmasında (ooplazma) periferden başlayarak kortikal alveoller izlenir. Evre ilerledikçe kortikal alveoller çoğalıp oositin içini tamamen doldurmaktadır.



Şekil 2.3. Ovaryum foliküler gelişim evreleri, Germinal vezikül (GV)

Vitellogenik evrede vitellüs damlacıkları gitgide çoğalarak oosit çeperine doğru yayılmaya başlar. Oosit büyüklüğünün artmış, kortikal alveoller perifere doğru ilerlemiş durumdadır. Vitellogenik fazın başlaması ile ovaryum zarının histolojik yapısı değişmektedir.

Olgunlaşma evresinde, nükleusun animal kutba göçüyle tanımlanmaktadır. Nükleus şeklini kaybetmekte, zarı parçalanmakta, nükleoluslar sitoplazma içine dağılmaktadır. Sitoplazmadaki besin granülleri de besin kitlesini oluşturmaktadır. Alveollerin hücre zarının altında bir tabaka şeklinde toplanmaktadır. Olgunlaşma fazının sonunda yumurta şekillenmektedir. Mayozun sürdüğü olgunlaşma aşamasında germinal vezikül (GV) yıkılmaya başlar.

Atresia, olgunlaşamayan oositlerde gözlenen dejenerasyon anlamından, oositi çevreleyen folikül kılıf hücrelerinden özellikle granülosa hücrelerinin çarpıcı bir biçimde irileşmeleri (hipertrofi) ve sayıca artmaları (hiperplazi) ile ifade edilir. Normal oositlerde zona radiata tabakası düzgün haldeyken, atretik oositlerde bu görünüm bozulmakta, tabaka dağılıp heterojen bir yapıdadır.

BÖLÜM 3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Zebra balığı (*Danio rerio*)

Zebra balığı *Cyprinidae* familyasına ait ve asıl yaşam ortamı Güneydoğu Asya olup tropik bir türdür. Ayrıca Pakistan ve Hindistan’da durgun temiz bol oksijenli sularda yaşarlar. Üzerinde Zebra’nın çizgilerine benzer çizgiler bulundurduğundan zebra balığı denilmektedir (Şekil 2.4.). Boyları dişilerde 6 cm.ye kadar ulaşmaktadır. Erkekler ise dişilerden daha küçüktür. Yaşam koşullarına bakıldığında 20 ile 30-32 °C arasındaki sıcaklıkta yaşayabilmektedirler. Nötr sulardan hoşlanırlar ve 6,5 ile 7,2 pH arasındaki sular bu balıklar için idealdir. Zebra Balığı, (*Danio rerio*) (Hamilton, 1822), genetik, gelişim biyolojisi, nörofizyoloji ve biyotıp alanlarındaki en önemli omurgalı hayvan model organizmalardan biridir.



Şekil 2.4. Dişi zebra balığı (*Danio rerio*)

D. rerio; kolay temin edilmesi ve beslenmesinin de güç olmayışı, ayrıca dayanıklı bir tür oluşuyla bilimsel çalışmalarda sıklıkla kullanılan önemli model organizmadır. Bu balığın üretimi kolaydır ve hızlı bir şekilde gelişim gösterir. Deneylerin tamamlanması ve embriyo üzerindeki etkilerinin gözlemlenmesi kolaydır (Dahm, 2002). Zebra balığı yüksek döl verimine sahiptir. Optimal şartlarda, bir dişi haftada 200 yumurta üretir (Brand ve ark., 2002).

Ayrıca bu organizmaların üretimi de ucuzdur. Ayrıca insanla pek çok ortak gene sahip olan zebra balıklarının erginleşme süreleri de diğer omurgalılarla kıyaslandığında daha kısa olduğu bellidir. Sırt yüzgeci beyazla sınırlanmış koyu mavi üst kenara sahipken, anal yüzgeç benzer şekilde çizgilidir. Kuluçka sonrası ilk üç ay boyunca Zebra balığı büyüme oranı en hızlıdır (Spence ve ark., 2007). Farmakolojik ve toksikolojik araştırmalarda da en çok kullanılan organizmadır. Zebra balığı ile insan ve diğer omurgalıların genom yapılarının benzerliği, Zebra balığını model organizma olarak tercih edilmesine sebep olmaktadır. Mikroenjeksiyon, hücre transplantasyonu gibi deneysel manipülasyonlara karşı dayanıklı bir canlıdır (Gilmour ve ark., 2002).

3.1.2. Ortam koşulları

Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Araştırma Laboratuvarı içerisine zebra balığı ile yapılacak deneyler için 10x20x35 cm boyutlarında akvaryumlar kuruldu. Bu çalışma için ticari bir akvaryumcudan 30 adet dişi zebra balığı temin edildi. 20 litrelik akvaryumlarda filtrelenmiş musluk suyuna uyum sağlamaları için bir hafta karantinaya alındı.

Bir hafta boyunca akvaryumlarda 26-28°C optimum sıcaklık altında *Tubifex* sp. ile günde bir kez beslendi. Bu çalışmada ziraatçıdan temin edilen mancozeb (%80) kullanıldı. Çalışma için 5 ppm (0,05 g mancozeb, 8 L su), 7,5 ppm (0,075 g mancozeb, 8 L su) deney ve kontrol olarak 2 gruba ayrılmıştır (n:10). Bu deney 2 tekrar şeklinde yapılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Ovaryum dokularının histolojik incelenmesi

3.2.1.1. Fiksasyon (tespit etme)

Histolojik analiz için beşinci günün sonunda balıklar buzlu suda anestetize edildi. Fiksatif olarak bouin solüsyonu seçildi. Çıkarılan ovaryum dokusu Bouin solüsyonu (Tablo 3.1.) içerisinde 24 saat bekletildi.

Tablo 3.1. Bouin solüsyonunun hazırlanışı

Distile suda satüre pikrik asit	1500 ml
%40'lık formalin.....	500 ml
Glacial asetik asit.....	100 ml

3.2.1.2. Dehidrasyon

24 saat Bouin solüsyonunda bekletme aşamasından sonra doku takibi işlemine geçildi. Doku takip işlemine alınan ovaryum doku parçaları dokulardan suyu çıkarmak, dehidre etmek için artan alkol seviyelerinden geçirildi. En son olarak dokulardan alkolün uzaklaştırılmasını sağlayıp yerine sonraki adım olan parafine gömme işlemi için dokuların içerisine parafin girmesini sağlamak amacıyla ksilolde bekletildi.

Tablo 3.2. Dehidrasyon aşamaları

Çözelti	Çözelti İçeriği	Miktar	Süre
%70	Distile su Etanol	30 mL 70mL	3 dakika
%80	Distile su Etanol	20 mL 80mL	3 dakika
%90	Distile su Etanol	10mL 90mL	3 dakika
%100	Distile su Etanol	100mL	3 dakika
%100	Distile su Etanol	100mL	3 dakika

3.2.1.3. Boyama

Bloklardan 5 μ kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler Ehrlich's Hematoxylin-Eosin (HE) (Tablo 3.3.), Masson Trikrom (Tablo 3.4.) ve Periodic Acid Schiff. (PAS) (Tablo 3.5.) boyama yöntemleri ile boyandı. Son adım olarak Leica ışık mikroskobu ile incelenerek ovaryum dokusunun histolojik değişikliklerinin fotoğrafları çekilmiştir.

Tablo 3.3. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi

İşlem	Uygulama Süresi
Ksilol	2x3 dk
%100 Etanol	2x1,5 dk
%90 Etanol	30 sn
%70 Etanol	30sn
Akarsu altında	30 sn
Hematoksilen	1 dk
Distile su	4 dk
%95 Etanol	30 sn
Eozin	1 dk
%100 Etanol	2x1,5 dk
Ksilol	45 sn
Entellanla kapama	

Tablo 3.4. Masson Trikrom boyama yöntemi

İşlem	Süre
Ksilol	5 dk
%100 alkol	3 dk
%90 alkol	3 dk
%80 alkol	3 dk
%70 alkol	3 dk
Bouin solüsyonu(etüvde)	15 dk
Akar suda akıtma (sarı renk gidinceye kadar)	
Hematoksilen	10 dk
Akar su	5 dk
Trikrom	45 dk
% 5'lik Asetik asit	5-10 sn
Akar su	
%70 alkol	3 dk
%80 alkol	3 dk
%90 alkol	3 dk
%100 alkol	3 dk
Ksiol	5 dk

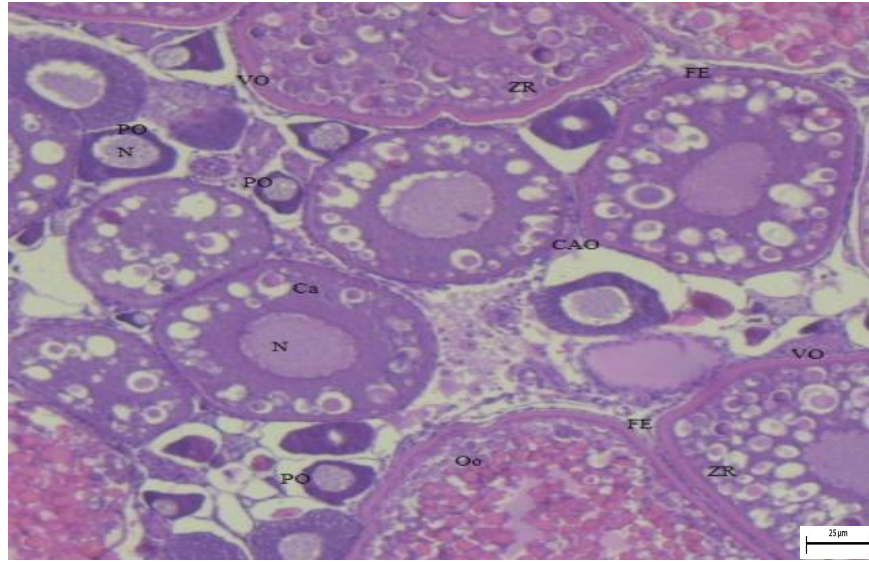
Tablo 3.5. Periodic Acid Schiff, (PAS) boyama yöntemi

İşlem	Süre
Ksilol	2-3 dk
%100 alkol	2-3 dk
%95 alkol	2-3 dk
%70 alkol	2-3 dk
Distile sudan geçir	
% 0,5 periyodik asit	1 saat (karanlıkta)
Akan suda yıkama	5 dk
Distile sudan geçir	
Sabit reagent(ayırıcı)	15 dk
Akan sudan geçir	5 dk
Zıt boyama(hematoksilen)	3 dk
%70 alkol	2-3 dk
%95 alkol	2-3 dk
%100 alkol	2-3 dk
%100 alkol	2-3 dk
Ksilol	10 dk
Ksilol	10 dk

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Kontrol Grubu Ovaryum Histolojisi

Zebra balığının ovaryum dokusu histolojisi incelendi ve farklı evredeki oositler görüntülendi. Zebra balığı oosit gelişimi dört aşama olarak gözlendi. Bu aşamalarda oositler; primer oosit, kortikal alveolar oosit, vitellojenik oosit, olgun oosit, atretik oosit tespit edildi. Primer oosit evresinde, nükleuslar sitoplazmaya oranla daha büyük, yuvarlak ya da oval olarak görüldü. Kortikal alveolar evrede oosit çapında gözle görünür bir artış görüldü. Vitellojenik evrede, oosit büyüklüğünün arttığı izlendi (Şekil 4.1.). Bu sırada düzenli, kalın ve çizgili yapısıyla zona radiata tabakası da görüntülendi. Olgunlaşma evresinde, nükleus şeklini kaybetmiş, zarı parçalanmış, nükleoluslar sitoplazma içine dağılmıştı (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Zebra balığı ovaryum dokusu genel görünümü; Primer oosit (PO), Kortikal alveolar oosit (CAO), Kortikal alveol (Ca), Vitellojenik oosit (VO), Olgun Oosit (Oo), Nükleus (N), Folikül epitelyum (FE), Zona Radiata (ZR). (10X H&E).

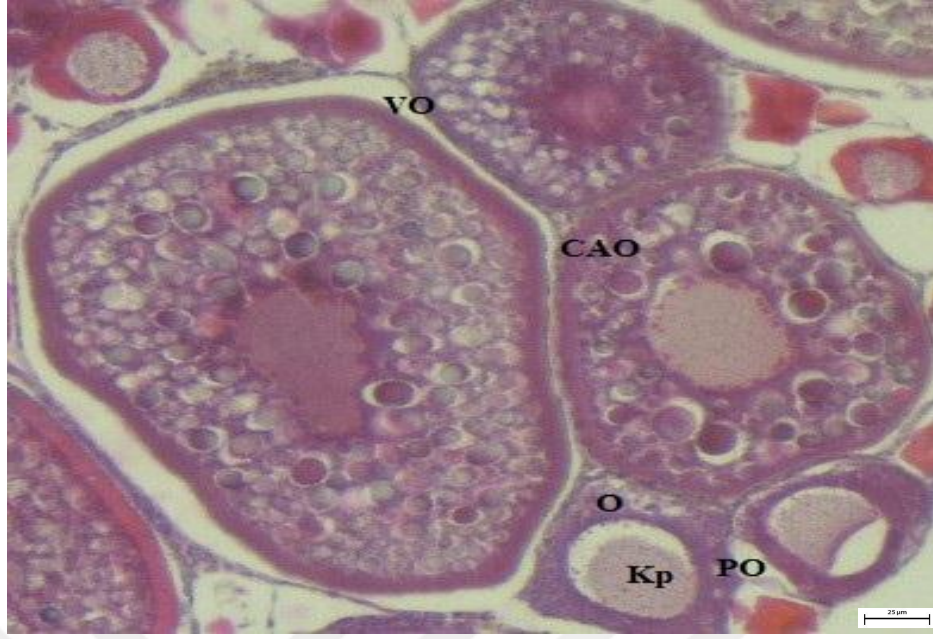
4.2. Deney Grubu Ovaryum Histolojisi

4.2.1. 5 ppm deney grubu

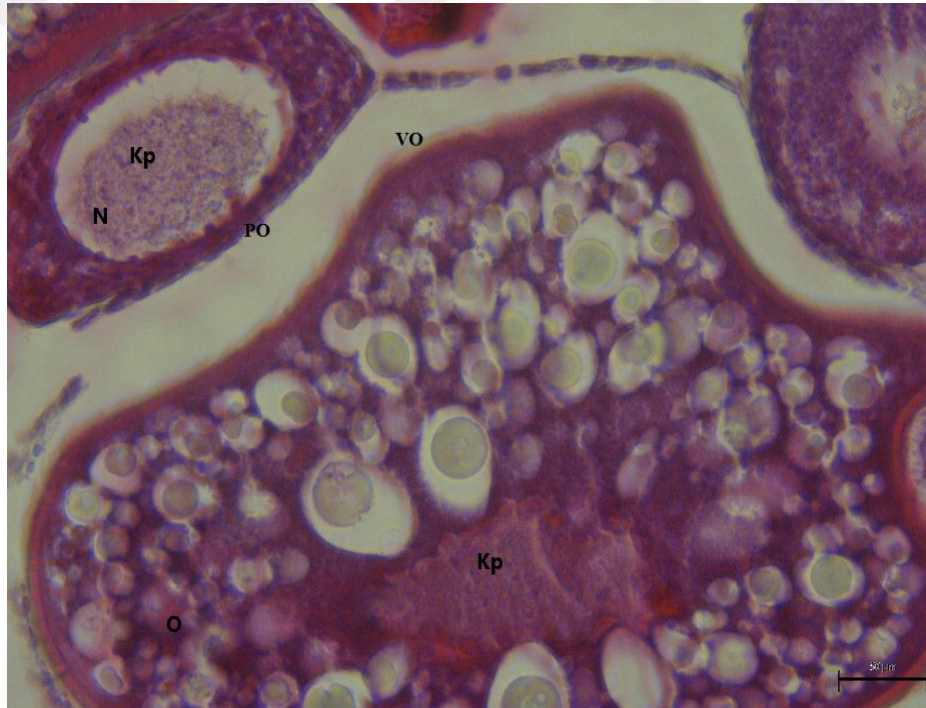
Bu grupta mancozeb doz uygulaması sonucu histopatolojik değişikliklerin düşük seviyede olduğu görüldü. Primer oosit sayısında düşüş olduğu görüntüldü. Nükleoplazma (karyoplazma) ve ooplazma arasında boşluklar oluştuğu gözlemlendi (Şekil 4.5.). Primer oositlerde, kortikal alveolar oositlerde ve vitellojenik oositlerde morfolojik deformasyonlar meydana geldiği izlendi (Şekil 4.2.). Ooplazmada bazı bölgelerinde vakuolizasyon olduğu görüldü (Şekil 4.6.). Folikül epiteli ve zona radiata arasında açılma olduğu izlendi (Şekil 4.5.). Nükleoplazma ve nükleusta büzülme tespit edildi (Şekil 4.4.). Doz uygulamasına bağlı olarak Atretik oosit sayısında artış tespit edildi. (Şekil 4.7.).



Şekil 4.2. 5 ppm mancozeb grubu ovaryum dokusu; Primer oosit (PO) sayısında azalma, Kortikal alveolar Oosit (CAO), Vitellojenik Oosit (VO) morfolojisinde deformasyon (X10, H&E).



Şekil 4.3. 5 ppm mancozeb grubu ovaryum dokusu; Karyoplazma (Kp) ve Ooplazma (O) arasında boşluk oluşumu, Primer oosit (PO), Vitellojenik Oosit (VO), Kortikal alveolar Oosit (CAO), (X10, Masson trikrom)



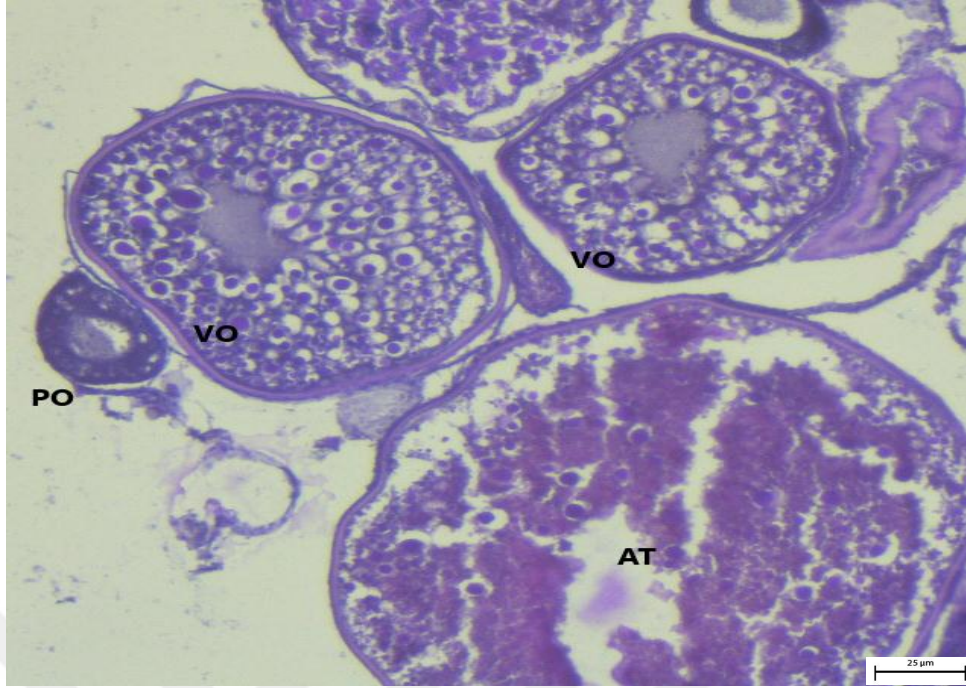
Şekil 4.4. 5 ppm mancozeb grubu ovaryum dokusu; Vitellojenik Oositte (VO) morfolojik deformasyon, membranda kıvrılma, Nükleus (N) ve karyoplazmada (Kp) topaklanma, Ooplazma (O), (X40, Masson trikrom)



Şekil 4.5. 5 ppm mancozeb grubu ovaryum dokusu; Zona radiata (ZR) ve folikül epiteli (Fe) arasında açılma, Kortikal alveolar Oosit (CAO), dejenerasyon, Ooplazma (O), Nükleolus (No), Nükleus (N) (X40, Masson trikrom)



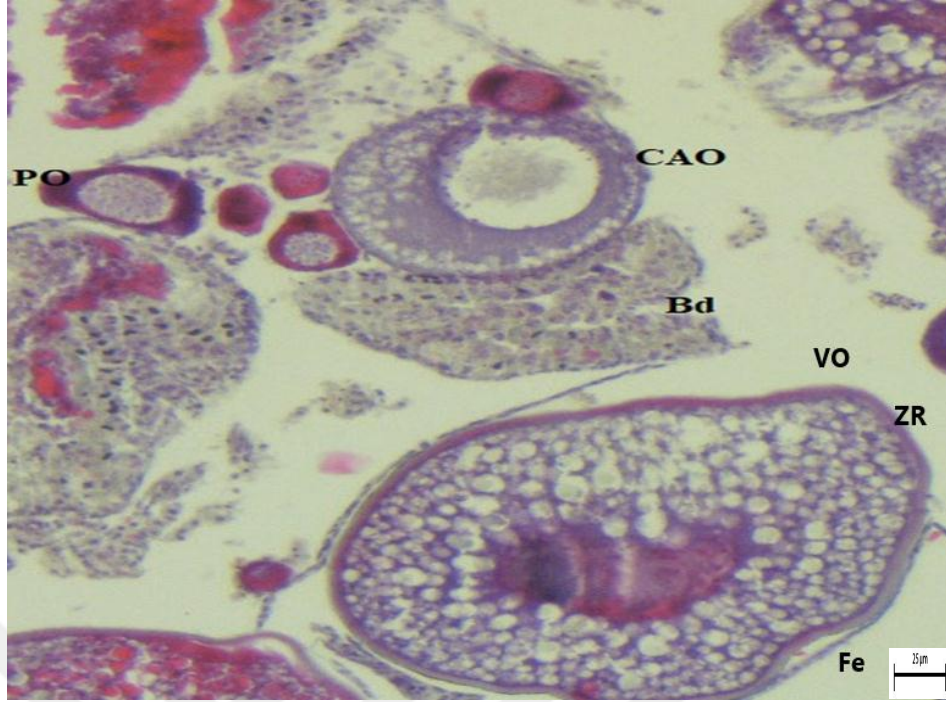
Şekil 4.6. 5 ppm mancozeb grubu ovaryum dokusu; Vitellojenik oositin (VO), folikül epitelinde (FE) açılma, Ooplazmada (O) vakuolizasyon (X40, Masson trikrom).



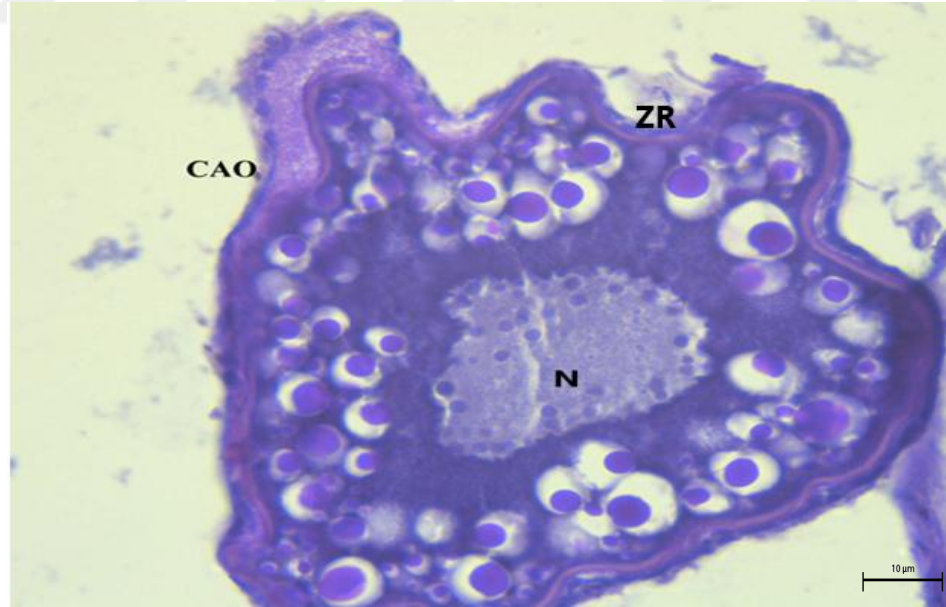
Şekil 4.7. 5 ppm mancozeb grubu ovaryum dokusu; Atretik oosit (AT), Vitellojenik Oosit (VO), Primer Oosit (PO), (X10, PAS).

4.2.2. 7,5 ppm grubu ovaryum histolojisi

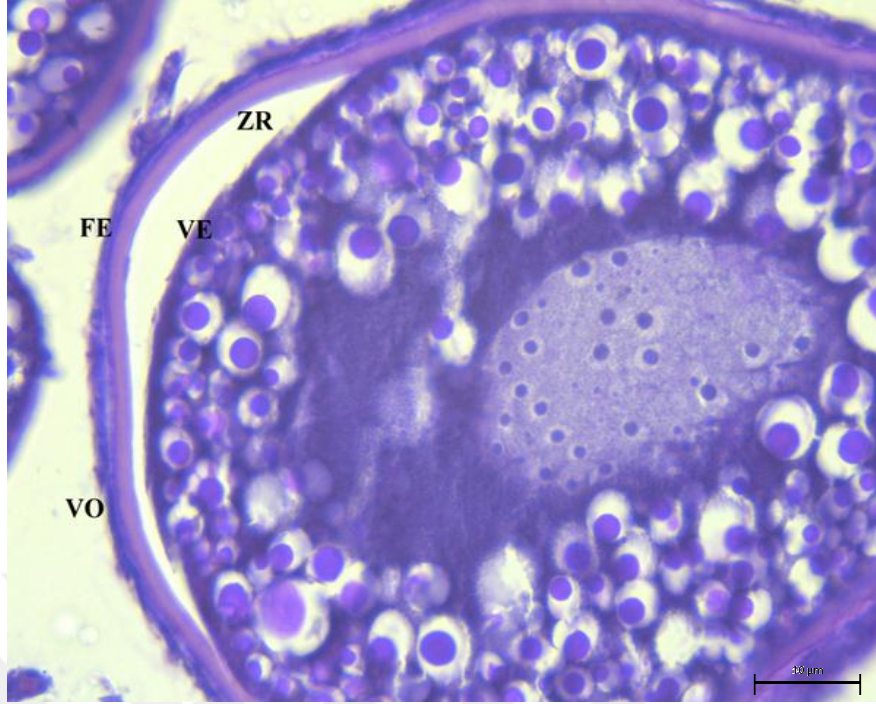
Mancozeb doz miktarı artıkça oositlerde dejenerasyon düzeyindeki artışın belirgin hale geldiği tespit edildi. Aynı zamanda primer oosit, kortikal alveoler oosit ve vitellojenik oosit sayısında azalma meydana geldiği görüldü. Bağ dokusundaki artış belirgin görüntülendi (Şekil 4.8.). Bazı oositlerin zona radiatasında yıpranma ve parçalanma olduğu görüldü. Vitellojenik oositlerde, vitellin zar ile zona radiata arasında ayrılma meydana geldiği tespit edildi (Şekil 4.10.). Vitellojenik oositlerin kortikal alveollerinde şişme, birleşme gibi deformasyonlar meydana geldiği belirlendi. Ayrıca vitellojenik oositlerin karyoplazmasında büzülme görüldü (Şekil 4.11.) Oositlerdeki deformasyon artışı ile zona radiatada kıvrılma olduğunu tespit edildi (Şekil 4.9.).



Şekil 4.8. 7,5 ppm mancozeb doz grubu ovaryum dokusu; Bağ Dokusunda (Bd) artış, Primer Oosit (PO), Vitellojenik Oosit (VO), Kortikal Alveoler Oosit (CAO) sayısında azalma, deformasyon, Zona radiata (ZR), Folikül epiteli (Fe),(X10, Masson trikrom).



Şekil 4.9. 7,5 ppm mancozeb doz grubu ovaryum dokusu; Kortikal alveoler oositlerde (CAO) göze çarpan morfolojik deformasyonlar, Zona radiatada (ZR) da bükülme, kıvrılma (X40, PAS).



Şekil 4.10. 7,5 ppm mancozeb doz grubu ovaryum dokusu; Zona radiata (ZR) ve Vitellin zar (VE) arasında açılma, Folikül epiteli (FE) Vitellojenik Oosit (VO), (X40, PAS).



Şekil 4.11. 7,5 ppm mancozeb doz grubu ovaryum dokusu; kortikal alveollerinde şişme, birleşme, deformasyon ve karyoplazmada (Kp) büzülme, Vitellojenik Oosit (VO), (X40, H&E).

BÖLÜM 5. TARTIŞMA

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de sanayi alanındaki gelişmeler pek çok organik kirleticilerin hayatımıza girmesine sebep olmuştur. Organik kirleticilerin önemli bir kısmını endüstriyel kimyasallar ve pestisitler oluşturmaktadır. Pestisit gibi kirleticilerin rastgele, sürekli ve bilinçsizce kullanımı da hem karasal ekosistemde hem de su ekosisteminde tahribata yol açmaktadır. Uygulamada genellikle insanlara ve çevreye zararlı olmayacak dozlarda kullanılmalarına rağmen, uzun süre maruz kalındığında, zararlı etkileri görülmektedir.

Bizim çalışmamızda kirleticilerden pestisit ürünü olan mancozeb maddesinin zebra balığı ovaryumu üzerine etkilerini göstermek amacıyla yapıldı. Mancozeb'in farklı dozlarda (5 ppm ve 7,5 ppm) Zebra balığı ovaryumlarında histopatolojik değişikliğe neden olduğunu görüldü. Mancozeb'in Zebra balığın da ovaryum dokusunu olumsuz etkilediği tespit edildi. Primer oositlerde, kortikal alveolar oositlerde ve vitellojenik oositlerde morfolojik deformasyonlar, ooplazmada bazı bölgelerinde vakuolizasyon, folikül epiteli ve zona radiata arasında ayrılma, karyoplazma ve nükleusta topaklanma, atretik oositler sayısında artış gibi değişiklikler meydana geldi.

Yapılan çoğu çalışmalarda mancozeb'in hem insanlarda hem de deney hayvanlarında olumsuz sağlık etkilerine neden olduğu gösterilmiştir. Yüksek doz mancozeb, sıçanlarda solunum güçlüğü, tükürük salgılama, ishal ve arka bacaklarda felç olmak üzere genel toksisiteye ve nörotoksik etkilere neden olmuştur (Kackar ve ark. 1997; Trivedi ve ark. 1993). Sıçanlara mancozeb uygulaması sonucunda ovaryum, testis, epididim ağırlığında azalma ve üreme organlarında histopatolojik değişiklikler gözlenmiştir (Baligar ve Kaliwal, 2001; Kackar ve ark., 1997; Mahadevaswami ve ark., 2000).

Yapılan farklı bir çalışmada ise, *Clarius batracus* türü balıklarda mancozeb uygulaması sonucu denge kaybı olduğu kaydedilmiştir. (Srivastava ve Singh, 2013). Bir başka çalışmada *Oreochromis mossambicus* türü balıklar mancozebe maruz bırakılmıştır. Bu çalışmada balıkların vücut yüzeylerinin tamamında aşırı mukus salgılanması, muhtemelen yüksek toksik maddeden dolayı aşırı stres durumu gözlenmiştir (Saha ve ark., 2016). Mancozeb konsantrasyonunda artış ile *P. ticto*'nun hayatta kalma oranı düştüğü belirtilmiş (Sharma ve ark., 2016).

Organoklorin pestisit endosülfan ve organofosforlu pestisit malathion, *Cyprinus carpio*'da LH kaynaklı oosit olgunlaşmasını inhibe ettiği de gösterilmiştir (Haider ve Imbaraj, 1988). Pandey tarafından yapılan bir çalışmada, (1988) , tatlı su balığı *Colisa fasciatus*'un yumurtalıklarına endosulfan uygulandığında, yumurtalık aktivitesini geciktirdiği, oosit çapında ciddi azalma olduğu rapor edilmiştir. Dutta ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada (2008), *Lepomis macrochirus* %25, %75, %100 konsantrasyonda endosulfana maruz bırakılmıştır. 24 saat sonra yapılan histolojik incelemelerde ovaryumda; foliküller arasında adhezyon(yapışma), nükleer retraksiyon(çekilme), sitoplazmik retraksiyon, karyoplazmada topaklanma, atretik oosit sayısında artış olduğu rapor edilmiştir.

Dutta ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada (1994), *Heteropneustes fossilis* malathiona (1.2 mg 1-1) maruz bırakılmıştır. Çalışma sonucunda ovaryumda, dejenerasyon, folikül epitelinde yırtılma, sitoplazmada topaklanma, atretik oosit sayısında artış olduğu belirtilmiştir. Malathiona ile yapılan bu çalışmadaki bulgular bizim çalışmamızdaki bulgular ile benzerlik göstermektedir.

Yapılan bir diğer çalışmada *C. punctatus* türüne malathion 0,8 ppm konsantrasyonunda 4 ve 15 günlük uygulama yapılmıştır. 4 günlük doz grubunda olgun oositlerde boyutlarında küçülme, sitoplazmalarda vakuolizasyon gözlenirken; 15 günlük doz grubunda ise parçalanmış oositler, nekroz ve uzamış folikülleri gözlenmiştir (Magar ve ark., 2013). Yapılmış olan bu çalışmadaki bulgular, bizim çalışmamızdaki bulgularımızla kısmen uyumludur.

Channa orientalis, 30 ile 45 günlük bir süre boyunca organofosforlu peptisitlerden Nuvan (0,27 mg 1-1) ve Dimecrona (0,55mg 1-1) maruz bırakılmıştır. Ovaryumda, oosit çapında azalma, oosit gelişim evrelerinde azalma, atretik foliküllerin yüzdesinde artış olduğu rapor edilmiştir (Saksena ve ark., 1999). Bu çalışmadaki atretik foliküllerinin artması yönünden bizim çalışmamızla benzerlik göstermektedir.

Bir başka çalışmada *Heteropneustes fossilis* karbofurana maruz bırakılmış, folikül duvarında dejenerasyon, oositlerin ooplazmasında vakuolizasyon olduğu rapor edilmiştir (Chatterjee ve ark., 1997) yapılan bu çalışma bizim çalışmamızda gözlediğimiz sonuçları desteklemiştir. Yapılan bir çalışmada, *Rasbora daniconius* organizma üzerine 0,1 mg/L karbamat karbofuran ve 0,001 mg/L endosülfan uygulandığında ovaryum dokusunda oluşan hasarlar tespit edilmiştir (Rastogi ve Kulshrestha 1990; Kogan ve ark., 2000). Karbofurana maruz bırakılan *C. punctatus* ovaryumunda dejenerasyon meydana geldiği, ooplazmik parçalanma ve topaklanma olduğu belirtilmiştir (Ram ve ark., 2001). Bu bulgular da bizim çalışmamızdaki sonuçlarla uyumludur.

Organofosforlu pestisitlerden monokrotofosun *C. punctatus*'un ovaryumları üzerindeki etkilerinin incelendiği bir başka araştırmada ise kontrol grubundan farklı olarak 15 gün süreyle her konsantrasyonun maruziyeti sonrasında, vitellogenезде azalma ve atrezi gözleendiği belirtilmiştir. 45 günlük maruziyet sonrasında, belirgin vakuolizasyon bulgusu ve doku nekrozuna eşlik eden oosit atrezisinde artış, indirgenmiş vitellogenéz bulguları bildirilmiştir (Maqbool ve Ahmed, 2013). Bu çalışmanın bulguları elde ettiğimiz sonuçlarla uyumludur.

Deltamethrinin farklı dozlarına maruz bırakılan zebra balığı ovaryum dokusunda dejenerasyona sebep olduğu açıklanmıştır. Ovaryum dokusunda primer oositlerde azalma, kromatin düzensizlikleri, nükleolus yapısındaki dejenerasyon ve ooplazmada deformasyon, kortikal alveol sayılarındaki azalma, nükleoluslarda düzensizlikler, nukleus membranında açıklıklar gibi morfolojik değişimlerin ortaya çıkmasına Deltamethrin kimyasalının sebep olduğu belirtilmiştir (Koç ve ark., 2009). Benzer etkilere mancozeb kimyasalının da neden olduğunu çalışmamızda belirttik.

Yaptığımız çalışmada elde edilen sonuçlar, bugün tarımda sıklıkla kullanılan bazı fungusit kullanımının kontrol edilmesi gerektiğini açıkça ortaya koymaktadır. Ditiyokarbamat pestisit türü olan Mancozeb'in, yaptığımız çalışmada zebra balığı (*Danio rerio*) ovaryum dokusu üzerinde deformasyonlara ve olumsuz etkilere sebep olduğu tespit edilmiştir. Tüm bu histolojik değişiklikler üreme ile yakından ilgilidir.

Bu nedenle, bu çalışma, doğal temiz su rezervuarlarını çevreleyen tarım alanlarında zararlı kontrol işlemlerinde Mancozeb'in temkinli uygulanmasını gerektirmektedir. Yapılan bu çalışmalar doğrultusunda pestisitler ve endüstriyel kimyasallar balıkların ovaryum dokusunu ciddi boyutlarda olumsuz etkilediğini göstermektedir. Özellikle bu maddelerin kullanım miktarı ve doğaya bulaşmaması için özen gösterilmesi gerekmektedir. Mancozeb gibi sıklıkla kullanılan ve doğada birikimi oldukça fazla olan diğer pestisitlerin ve hatta diğer kimyasalların canlı organizmalarda meydana getirecek etkileri gözlemlemek amacıyla çalışmalar daha çok genişletilmelidir. Bu çalışma daha sonraki araştırmalara ışık tutarak pestisitlerin insanlar üzerindeki etkilerinin klinik yansımaları takip edilmeli, üreme biyolojisi ve genel fizyolojik denge üzerine etkileri araştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Akaishi, F. M., Silva, A. H. C., Jakobi, S. C. G., Eiras, S. D. R., St-Jean, S. D., Courtenay, S. C., Lima, E. F., Wagener, A. L. R., Scofield, A. L. and Oliveira, R. C. A., 2004. Morphological and neurotoxicological findings in tropical freshwater fish (*Astyanax* sp.) after waterborne and acute exposure to water soluble fraction (wsf) of crude oil. *Arch. Environ. Contamin. Toxicol.*, 46, 244- 253.
- Atamanalp, M., Yanık, T., 2003. Alterations in hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to mancozeb. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 27, 1213–1217.
- Axelstad, M., Boberg J., Nellemann C., Kiersgaard M., Jacobsen P.R., Christiansen S., et al. 2011. Exposure to the widely used fungicide mancozeb causes thyroid hormone disruption in rat dams but no behavioral effects in the offspring. *Toxicol. Sci.* 120(2):439–446.
- Baligar, P. N., and Kaliwal, B. B., 2001. Induction of gonadal toxicity to female rats after chronic exposure to mancozeb. *Ind. Health* 39, 235–243.
- Begum, G., 2004. Carbofuran insecticide induced biochemical alterations in liver and muscle tissues of the fish *Clarias batrachus* (linn) and recovery response. *Aquatic Toxicology*, 66: 83–92.
- Brand, M., Granato, M, Nusslein-Volhard, C., 2002. “Keeping and raising zebrafish”. In: *Zebrafish: A Practical Approach*, Nusslein- Volhard C, Dahm R, (eds.). Oxford: Oxford University Press, p: 7-3.
- Camoni I., Di Muccio A., Pontecorvo D., Citti P., 1988. Survey of ethylenethiourea (ETU) in ethylenebis (dithiocarbamate) (EBDC) fungicides. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 16(2):176–179.
- Carpio, Y., Estrada, M.P., 2006. Zebrafish as a Genetic Model organism. *Biotechnol. Apl.*, 23: 4.
- Chatterjee , Dutta AB, Ghosh RAD.,1997. Impact of carbofuran in the oocyte maturation of catfish, *Heteropneustes fossilis* (Blosh). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*.32(4):426-430.

- Chhabra, R.S., Eustis S., Haseman J.K., Kurtz P.J., Carlton B.D., 1992. Comparative carcinogenicity of ethylene thiourea with or without perinatal exposure in rats and mice. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 18(3):405–417.
- Curley, FD.1977. *Arch. Environm. Contam. Toxicol.* Alıntı: Pestisitlerin Kronik Etkisine Maruz Kalan Tarım İşçilerinde Karaciğer Fonksiyonlarının İncelenmesi.Dahm, R., 2002. Atlas of embryonic stages of development in the zebrafish. In: *Zebrafish: A Practical Approach*, Nusslein-Volhard C, Dahm R, (eds.). Oxford: Oxford University Press, p: 219-236.
- Colborn T., 1993. Developmental Effects of Endocrine-disrupting Chemicals in Wildlife and Humans. *Environmental Health Perspectives.* 101 (5): 378-384.
- Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C., Burçak, A., Türkiye’de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları, Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongre, 3 – 7 Ocak 2005, 629-648.
- Delen, N., Kınay, P., Yıldız, F., Yıldız, M., Altınok, H. H., Uçkun, Z., 2010. Türkiye tarımında kimyasal savaşımın durumu ve entegre savaşım olanakları, Türkiye Ziraat Mühendisliği 7.Teknik Kongre, Ankara.
- Demir, N., 1996, İhtiyoloji. İ. Ü. Fen Fakültesi, No: 236 Sayı: 3903 2. Baskı pp.217-247., İstanbul.
- Dutta, Nath A., Adhikari S., Roy P. K. , Singh N. K. and Munshi J. S. D.,1994. Sublethal Malathion induced changes in the ovary of an air- breathing fish, *Heteropneustes fossilis*: a histological study. *Hydrobiologia*, 294 (3): 215-218.
- Dutta, Dalal, R.,2008, The Effect of Endosulfan on the Ovary of Bluegill Sunfish: A Histopathological Study (*Lepomis macrochirus*). Department of Biological Sciences, Kent State University,Kent, OH 44242, USA.
- El-Ebiary, E.H., Wahbi O.M., El-Greisy Z.A., 2013. Influence of Dietary Cadmium on Sexual Maturity and Reproduction of Red Tilapia. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 39, 313–317.
- EPA, 2005. <http://www.epa.gov/pesticides/> .
- Freire, C., & Koifman, S., 2012. Pesticide exposure and Parkinson's disease: epidemiological evidence of association. *Neurotoxicology*, 33(5), 947-971.
- Gilmour, D.T., Jessen, J.R., Lin, S. 2002. Manipulating gene expression in the zebrafish. In: *Zebrafish: A Practical Approach*, Nusslein-Volhard C, Dahm R, (eds.). Oxford: Oxford University Press, p: 121-43.
- Goldner, W. S., Sandler, D. P., Yu, F., Hoppin, J. A., Kamel, F., and Levan, T. D., 2010. Pesticide use and thyroid disease among women in the Agricultural Health Study. *Am. J. Epidemiol.* 171, 455–464.

- Gromysz-Kalkowska K, Szubartowska E, Kaczanowska E, 1985. Peripheral blood in the Japanese quail (*Coturnix japonica*) in acute poisoning by different insecticides. *Comp. Biochem. Physiol.*, 81(1): 209-212.
- Güler, Ç. & Çobanoğlu, Z., 1997. Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No: 52. Basım. Ankara: TC Sağlık Bakanlığı, Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü yayını, 9-10.
- Haider, S., Imbaraj, R., 1988. In vitro effect of malathion and endosulfan on the LH-induced oocyte maturation in the common carp, *Cyprinus carpio* (L.). *Water Air Soil Pollut.* 39, 27–31.
- Hazarika, R., Das M., 1998. Toxicological Impact of BHC on the Ovary of the Air Breathing Catfish *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 60, 16-21.
- Heller, S.R. and A.E. Herner, 1990. "ARS pesticide properties database.", USDA-ARS Systems Research Laboratory, Beltsville, MD.
- Houeto, P., G. Bindoula and J.R. Hoffman, 1995. Ethylenebisdithiocarbamates and ethylenethiourea: possible human hazards. *Environ. Health Perspec.*, 103, 568-573.
- Hunter, D.J, Kelsey K.T., 1993. Pesticide residues and breast cancer: the harvest of a silent spring. *J. Natl. Cancer Inst.*, 85: 598-599.
- Jaat, A., Saroch J.D., Shrivastava R., Qureshi T.A., Manohar S., Shrivastava P., Borana K., 2013. Ameliorative Effect of *Spirulina* on The Histology of Ovary of Mercuric Chloride Effected Fish, *Clarias gariepinus* *International Journal of Green and Herbal Chemistry*, 2(1), 130-138.
- Kackar, Srivastava M.K. and Raizada R.B., 1999. Induction of gonadal toxicity to male rats after chronic exposure to mancozeb; *Ind. Health.*, 35(1), 104-111.
- Kackar, Srivastava, M. K., and Raizada, B. R., 1997. Studies on rat thyroid after oral administration of mancozeb: morphological and biochemical evaluations. *J. Appl. Toxicol.* 17, 369–375.
- Kegley, S., Neumeister, L. and Martin, T. 1999. Ecological Impacts of Pesticides in California. *Pesticide Action Network, California, USA.* pp 99.
- Keithmaleesatti, S., Siri Wong W., Borjan M., Bartlett K., Robson M., 2012. Pesticides residues in animals. In: Rathore HS, Nollet LM, eds. *Pesticides Evaluation of Environmental Pollution*. Boca Raton: CRC Press; p.319-36.
- Koç , N.D., Muslu M.N., Kayhan F.E., Çolak S.Ö, 2009. Histopathological changes in ovaries of zebrafish (*Danio rerio*) following administration of deltamethrin. *Fresenius Environ Bull.* 18(10):1872-1878.

- Kogan, M., Lopez Greco L.S., Romano L.A., Rodriguez A.M., 2000. Effects of cadmium on somatic and gonadal growth of juvenile females of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Brachyure: Grapsidae). Zool. Stud. 39:344-350.
- Kolayanova, F., Tarkowski S., 1981. Toxicology of Pesticide. Copenhagen, p41-123.
- Koren, H., & Bisesi, M., 1996. Handbook of Environmental Health and Safety, CRC. Inc, USA, 275-310.
- Kuçukgul, G.A., Altinterim B. and Aksu O., 2013. Determination of lethal concentration (LC50) values of *Cinnamomum zeylanicum* hydrosol on carp fish. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 12(1) 34-44.
- Kumar, S., Pant S.C., 1984. Comparative effects of the sublethal poisoning of zinc, copper and lead on the gonads of the teleost *Puntius conchonus* ham. Toxicology Letters, 23: 189-194.
- Ladics, G.S., Smith C., Heaps K. et al., 1994. Evaluation of the humoral immune response of CD rats following a week exposure to the pesticide carbaryl by the oral, dermal, or inhalation routes. J Toxicol. Environ. Health 42: 143-156.
- Leader, A., G. Kemmitt and Orpin, C., 2008. Dithane keeping an old friend going! Proc. 2008 Euroblight Workshop, Hamar, Norway.
- Lee, Y.M., Seo J.S., Kim I.C., Yoon Y.D., Lee J.S. 2006. Endocrine Disrupting Chemicals (Bisphenol A, 4-Nonylphenol, 4-Tert Octylphenol) Modulate Expression of Two Distinct Cytochrome P450 Aromatase Genes Differently in Gender Types of The Hermaphroditic Fish *Rivulus marmoratus*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 345, 894–903.
- Lemos, P., Medeiros R.S., Zanuncio J.C., Serras I.E. 2005. Effect of Sublethal Concentrations of Permethrin on Ovary Activation in the Predator”, Brazilian. Journal of Biology, 12 , pp. 309-312.
- Ligocki, M.P. and Pankow J.F., 1989. Measurements of the gas/particle distribution of atmospheric organic compounds, Environ. Sci. Technol., 23, 75-83.
- Linde, C.D., 1994. Physico-Chemical Properties and Environmental Fate of Pesticides, Department of Pesticide Regulation, Sacramento, CA.
- Magar, R.S., Bias U.E., 2013. Histopathological Impact of Malathion on The Ovary of the Fresh Water fish *Channa punctatus*. International Research Journal of Environment Sciences, 2(3), 59-61. ISSN 2319–1414.
- Mahadevaswami, M. P., Jadaramkunti, U. C., Hiremath, M. B., and Kaliwal, B. B. 2000. Effect of mancozeb on ovarian compensatory hypertrophy and biochemical constituents in hemi-castrated albino rat. Reprod. Toxicol. 14, 127–134.

- Maqbool, A., Ahmed I. 2013. Effects of Pesticide Monocrotophos (Organophosphate), on the Gonadal Development of Female Freshwater Murrel, *Channa punctatus* (Bloch). International Journal of Recent Scientific Research, 4(10), 1454-1458.
- McKinlay, R., Plant J.A., Bell J.N.B., Voulvoulis N., 2008. Endocrine Disrupting Pesticides: Implications for Risk Assessment. Environment International, 34, 168–183.
- Mostafalou, S., & Abdollahi, M. 2013. Pesticides and human chronic diseases: evidences, mechanisms, and perspectives. Toxicology and Applied Pharmacology, 268(2), 157-177.
- Murthy, K.S., Kiran B.R., Venkateshwarlu M. 2013. A review on toxicity of pesticides in fish. Int J Open Sci Res;1(1):15-36.
- Nordby, K. C., Andersen, A., Irgens, L. M., and Kristensen, P., 2005. Indicators of mancozeb exposure in relation to thyroid cancer and neural tube defects in farmers' families. Scand. J. Work Environ. Health 31, 89–96.
- Osaba, L., Rey, M. J., Aguirre, A., Alonso, A., Graf, U. 2002. Evaluation of genotoxicity of captan, maneb and zineb in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*: role of nitrosation, Mutation Research, 518, 95–106.
- Pandey, A.C., 1988. Impact of Endosulfan (Thiodan EC 35) on behavior and dynamics of oocyte development in the teleostean fish *Colisa fasciatus*. Ecotoxic. Environ. Safety. 15:221-225. doi:10.1016/0147-6513(88)90075-9h.
- Pearce, N., Reif J.S., 1990. Epidemiological studies of cancer in agriculture workers. Am. J. Int. Med., 18:133-148.
- Pete, E., Benville Jr., Smith C. E., Shanks W.E., 1968. Some toxic effects of dimethyl sulfoxide in salmon and trout. Toxicology and Applied Pharmacology 12:156-178.
- Picard, A., Palavan, G., Robert, S., Pesando, D., Ciapa, B., 2003. Effect of organochlorine pesticides on maturation of starfish and mouse oocytes. Toxicol. Sci. 73, 141–148.
- Pope, C.N., Charracborti, T.K. 1992. Dose-related inhibition of brain and plasma cholinesterase in neonatal and adult rats following sublethal organophosphate exposures. Toxicology, 73. 35-42.
- Povey, A. C., McNamee, R., Alhamwi, H., Stocks, S. J., Watkins, G., Burns, A., & Agius, R. 2014. Pesticide exposure and screen-positive neuropsychiatric disease in British sheep farmers. Environmental research, 135, 262-270.
- R&H Company. 1987a. Bulk density, water solubility, solvent solubility, vapor pressure, octanol/water, Henry's law, photolysis in water", DPR Vol. 176-039, Department of Pesticide Regulation, Sacramento, CA.

- Ram , Singh IJ, Singh DV. 2001. Carbofuran induced impairment in the hypothalamo-neurohypophysealgonadal complex in the teleost, *Channa punctatus* (Bloch). *Journal of Environmental Biology*. 22(3):193-200.
- Rastogi, A., Kulshrestha S.K. 1990. Effect of sublethal doses of three pesticides on the ovary of a carp minnow *Rasbora daniconius*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 45:742774. doi:10.1007/BF01700995.
- Saha, N.C., Giri S. K., Chatterjee N., Biswas S.J, Bej S. 2016. Acute toxic effects of Mancozeb to fish *Oreochromis mossambicus* (W. K. H. Peters, 1852) and their behaviour.
- Saksena, D.N. and Sexena, M. (1999). Event of biochemical intergration during the reproductive cycle found in murrel *Channa orientalis* (Lin) In *Ichthyol. Res. Advan.* oxford & 1BH publishing.com. Pvt. Ltd. New Delhi. 345-354.
- Schneider ,M.J(2010). *Introduction to Public Health*. 3th edition. Sudbury: Jones & Bartlett Learning,: 10.
- Sharma, M. R., Mushtaq R., Allayie S. A., Vardhan H. 2016. . Assessment of Lethal Toxicity of Mancozeb and Its Consequences on the Behavior of Fresh Water Fish, *Puntius Ticto*. *Impact Factor* 2.417, *ISSN*: 2320-5083.
- Simpson, M. G., Parry M., Kleinkauf A., Swarbreck D., Walker P., Leah R. T., 2000. Pathology of the liver, kidney and gonad of flounder (*Platichthys flesus*) from a UK estuary impacted by endocrine disrupting chemicals. *Marine Environmental Research*, 50:283-287.
- Smith, C.E. and Piper R.G., 1972. Lesions associated with chronic exposure to ammonia in *The Pathology of Fishes* Edt. By W. E. Ribelin, G. Migaki. The University of Wisconsin pres., 497-567. Sorensen, E. M.,
- Solomon, G., Ogunseitian O.A. and Kirsch J., 2000. *Pesticides and human health: a resource for health care professionals*. California, USA: Physicians for Social Responsibility and Californians for Pesticide Reform.
- Spence, R. & Smith, C., 2007. The role of early learning in determining social preferences based on visual cues in the zebrafish, *Danio rerio*. *Ethology* 113, 62- 67.
- Srivastava, P. and Singh, A. 2013. In vivo study of effects of dithiocarbamates fungicide (Mancozeb) and its metabolite ethylenethiourea (ETU) on fresh water fish *Clarius batrachus*. *Journal of Biology and Earth Sciences*. 3(2): 228-235.
- Szubartowska, E., Gromysz-Kalkowska K., 1992. Blood morphology in quails after poisoning with fenitrothion. *Comp. Biochem. Physiol. C*. 101(2): 263-267.

- Trivedi, N., Kackar, R., Srivastava, M. K., Mithal, A., and Raizada, R. B., 1993. Effect of oral administration of fungicide mancozeb on thyroid gland of rat. *Indian J. Exp. Biol.* 31, 564–566.
- Vural, N., 2005. Toksikoloji. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları.: 1-3.
- Vural, N.,1984. Toksikoloji. Ankara, A.Ü. Basımevi.
- Walsh, A. H., William E.R., 1972. The pathology of pesticide poisoning in *The Pathology of Fishes* Edt. By W. E. Ribelin, G. Migaki. The University of Wisconsin pres. P: 515- 538.
- Weizman, Z., Sofer, S.1992. Acute pancreatitis in children with anticholinesterase insecticide intoxication. *Pediatrics*. 204-206.
- WHO. 2005. The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification: 2004. Rome, France: World Health Organization of the United Nations.

ÖZGEÇMİŞ

Elif Uzun, 09.04.1990'da Trabzon'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Trabzon'da tamamladı. 2007 yılında Akçaabat Lisesi'nden mezun oldu. 2008 yılında başladığı Karadeniz Teknik Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nü 2013 yılında bitirdi. 2016 yılında Sakarya Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde yüksek lisans eğitimine başladı.

