

**SAZAN BALIĞI (*Cyprinus carpio* L., 1758) FİNGERLİNGLERİNE
PROPOXURUN HİSTOPATOLOJİK, HEMATOLOJİK VE
BİYOKİMYASAL ETKİLERİ**

Ayşen AYHAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE BİLİMLERİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ŞUBAT 2011
ANKARA**

Ayşen AYHAN tarafından hazırlanan SAZAN BALIĞI (*Cyprinus carpio* L., 1758) FİNGERLİNGLERİNE PROPOXURUN HİSTOPATOLOJİK, HEMATOLOJİK VE BİYOKİMYASAL ETKİLERİNİN İNCELENMESİ adlı bu tezin yüksek lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Ali Gül

Tez Danışmanı, Biyoloji Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Çevre Bilimleri Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ali GÜL

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Mehmet YILMAZ

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Doç. Dr. A. Çağlan KARASU BENLİ

Çevre Bilimleri Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Tarih:

Bu tez ile G. Ü. Fen Bilimleri enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Bilal TOKLU

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Ayşen AYHAN

**SAZAN BALIĞI (*Cyprinus carpio* L.,1758) FİNGERLİNGLERİNE
PROPOXURUN HİSTOPATOLOJİK, HEMATOLOJİK VE
BİYOKİMYASAL ETKİLERİNİN İNCELENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Ayşen AYHAN

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Şubat 2011

ÖZET

Bu çalışmada karbamatlı bir pestisit olan propoxurun 96 saatlik LC₅₀ (10 mg/L) değerinin yarısının (5 mg/L) sazan balığı (*Cyprinus carpio* L., 1758) fingerlinglerine histopatolojik, hematolojik ve biyokimyasal etkileri incelenmiştir.

Histopatolojik incelemeler sonucunda, kontrol grubuna ait dokularda ve propoxura maruz kalan balıkların dalak, bağırsak, kas, deri dokularında histopatolojik bulguya rastlanmazken, deney grubuna ait balıkların solungaç dokularında hiperemi, telangiektazi, hiperplazi, branchitis, sekonder lamellalarda füzyon, epitelyum kalkması ve epitelde deskuamasyon; böbreklerde kanama, ödem, glomerulusta yıkım, pre-nefritis, tubul içinde yangı-deskuamasyon; karaciğerlerde pasif hiperemi, albumin ve hidropik dejenerasyon; beyin dokularında hiperemi, kromatoliz ve glial proliferasyon kaydedilmiştir.

Hematolojik parametreler incelendiğinde deney grubunun hematokrit değerlerinin kontrol grubuna göre azaldığı saptanmıştır. Eritrosit sayısının deney grubunda kontrol grubuna göre arttığı tespit edilmiştir. Bu artış istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$). Deney grubundaki balıklarda kontrol grubuna göre lökosit sayısında artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiki

olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). MCV değeri deney grubunda kontrol grubuna göre azalmıştır.

Biyokimyasal analizlerde kontrol grubuna göre deney grubunda plazma glukoz, kolesterol, trigliserit ve fosfor değerinde artış saptanmıştır. Plazma total protein, klor ve AST değerinde kontrole göre artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). Plazma sodyum değerinde kontrole göre artış tespit edilmiştir. Bu artış istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Plazma kalsiyum ve potasyum değerlerinde kontrole göre azalma gözlenmiştir.

Bilim kodu : 903.1.032
Anahtar kelimeler : *Cyprinus carpio*, propoxur, kan parametreleri, histopatoloji
Sayfa adedi : 40
Tez Yöneticisi : Prof. Dr. Ali GÜL

**HISTOPATHOLOGICAL, HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL
EFFECTS OF PROPOXUR TO CARP (*Cyprinus carpio* L., 1758)**

FINGERLINGS

(M. Sc. Thesis)

Ayşen AYHAN

GAZI UNIVERSITY

INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

February 2011

ABSTRACT

In this study, carp fingerlings exposed to half of the 96 hour LC₅₀ value of propoxur effects were investigated histopathologically, hematologically and biochemically.

After histopathological evaluation, no significant histopathological changes in spleen, intestine, muscle, skin tissues after exposure to propoxur however hyperemia, telangiectasia, hyperplasia, branchitis in gill tissues; fusion, epithelium removal, epithelium desquamation in secondary lamella; hemorrhage, oedema in kidney; destruction, pre-nephritis, inflammation in the tubules–desquamation in glomerulus; passive hyperemia, albumin and hydropic degeneration in liver; hyperemia, kromatolysis and glial proliferation in brain tissues were recorded.

When the haematological parameters examined hematocrit values of experimental group were decreased according to the control group. Erythrocyte counts were increased in the experimental group when compared with the control group. This increasing was statistically significant ($p<0.01$). Leukocyte counts in experimental group were increased according to the control group. This increasing was statistically significant ($p<0.01$). MCV values in the experimental group were decreased when compared with the control group.

In biochemical analysis, plasma glucose, cholesterol, triglyceride, phosphorus levels were increased in experimental group according to the control group. Total plasma protein, chloride and AST levels increased in the experimental group when compared with the control group. This increasing was statistically significant ($p<0.01$). Plasma sodium levels were increased in experimental group according to the control group. This increasing observed statistically significant ($p<0.01$). Plasma calcium and potassium levels were decreased in experimental group according to the control group.

Science Code : 903.1.032

Key words : Carp (*Cyprinus carpio* L.,1758), propoxur, blood parameters, histopathology

Page number : 40

Adviser : Prof. Dr. Ali Gül

TEŞEKKÜR

Tez yöneticim, saygıdeğer hocam Prof. Dr. Ali GÜL'e, tezimin her aşamasında bilgi ve önerileriyle katkıda bulunan değerli hocalarım Prof. Dr. Figen ERKOÇ ve Doç. Dr. Mahmut SELVİ'ye, biyokimyasal analizlerin yorumlanmasında değerli hocam Doç. Dr. Aylin SEPİCİ DİNÇEL'e, balık doku örneklerinin yorumlanmasında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. İ. Ayhan ÖZKUL'a ve değerli hocam Doç. Dr. A. Çağlan KARASU BENLİ'ye, çalışmalarım esnasında yardımcı olan tüm lisans ve yüksek lisans öğrencisi arkadaşlarıma, manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan çok değerli arkadaşlarım Göknur AYKANAT, Elif ERGÜN ile Şerife EFE 'ye ve sevgili aileme teşekkür ederim.

04/2010-44 proje ile maddi olarak katkıda bulunan Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyonu Başkanlığına (GÜBAP) ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELER LİSTESİ	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
RESİMLER LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	6
3. MATERYAL VE METOT	11
3.1. Materyal.....	11
3.1.1. Deney yeri.....	11
3.1.2. Balık materyali.....	11
3.1.3. Pestisit materyali.....	11
3.1.4. Akvaryumlar ve su kalitesi	11
3.1.5. Araştırmada kullanılan diğer araç ve gereçler	12
3.2. Metot	13
3.2.1. Deney balıklarının hazırlanması	13
3.2.2. Deney yöntemi ve uygulama planı	14
3.2.3. Kan parametreleri	14
3.2.4. Plazma analizleri.....	15
3.2.5. Balıklarda histopatolojik incelemeler	16
3.2.6. İstatiksel analizler	17
4. DENEYSEL BULGULAR	18
4.1. Hematolojik Bulgular	18

Sayfa

4.2. Biyokimyasal Bulgular	19
4.3. Histopatolojik Bulgular	22
4.3.1. Solungaç dokusuna ilişkin bulgular	22
4.3.2. Karaciğer dokusuna ilişkin bulgular	25
4.3.3. Böbrek dokusuna ilişkin bulgular	27
4.3.4. Beyin dokusuna ilişkin bulgular	30
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	31
5.1. Kan parametrelerine ilişkin bulguların değerlendirilmesi	31
5.1.1. Hematolojik parametrelerin değerlendirilmesi	31
5.1.2. Biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesi	31
5.1.3. Histopatolojik Parametrelerin Değerlendirilmesi	32
KAYNAKLAR	35
ÖZGEÇMİŞ	40

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Sağlıklı sazan (<i>Cyprinus carpio</i> L., 1758) balıklarına ilişkin bazı kan parametreleri	6
Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan suyun kalite değerleri	12
Çizelge 4.1. Sazan fingerlinglerinin kontrol (C) ve deney (E; 5 mg/L propoxur) gruplarında hematolojik kan parametreleri.....	19
Çizelge 4.2. Kontrol (C) ve deney (E, 5 mg/L konsantrasyonda teknik propoxura 96 saat maruz kalan) gruplarında sazanların plazma elektrolitleri, glukoz, total protein, kolesterol, triglisrit ve AST (SGOT) değerleri	20
Çizelge 4.3. Subletal konsantrasyonda propoxura maruz kalan sazanların solungaç dokularında görülen histopatolojik bulgular.....	22
Çizelge 4.4. Subletal konsantrasyonda propoxura maruz kalan sazanların karaciğer dokularında görülen histopatolojik bulgular	25
Çizelge 4.5. Subletal konsantrasyonda propoxura maruz kalan sazanların solungaç dokularında görülen histopatolojik bulgular.....	27
Çizelge 4.6. Subletal konsantrasyonda propoxura maruz kalan sazanların beyin dokularında görülen histopatolojik bulgular	30

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Propoxurun kimyasal yapısı.....	4

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. Sazan balıklarında kontrol grubuna ait solungaç kesitleri (H& E, $\times 100$)	23
Resim 4.2. Sazan balıklarında solungaçlarda hiperemi (H& E, $\times 100$)	23
Resim 4.3. Sazan balıklarında solungaçlarda hiperplazi (H& E, $\times 100$)	24
Resim 4.4. Sazan balıklarında solungaçlarda epitelyum kalkması (H& E, $\times 100$) ...	24
Resim 4.5. Sazan balıklarında solungaçta telengiektazi (H& E, $\times 100$)	25
Resim 4.6. Sazan balıklarında kontrol grubuna ait karaciğer kesiti (H& E, $\times 100$) .	26
Resim 4.7. Sazan balıklarında hidropik dejenerasyon, pasif hiperemi (H& E, $\times 100$)	26
Resim 4.8. Sazan balıklarında karaciğerde albumin dejenerasyonu (H& E, $\times 100$) .	27
Resim 4.9. Sazan balıklarında kontrol grubuna ait böbrek kesitleri (H& E, $\times 100$) ..	28
Resim 4.10. Sazan balıklarında glomerulusta yıkım (H& E, $\times 100$)	28
Resim 4.11. Sazan balıklarında pre-nefritis (H& E, $\times 100$)	29
Resim 4.12. Böbrekte tubul içinde yangı deskuamasyon (H& E, $\times 100$)	29
Resim 4.13. Sazan balıklarında beyinde hiperemi (H& E, $\times 100$)	30

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
g	Gram
°C	Celsius
cm	Santimetre
%	Yüzde konsantrasyon
mg/kg	Kilogramda 1 miligram
mg/L	Litrede 1 miligram
g/dL	Desilitrede 1 gram
mg/dL	Desilitrede 1 miligram
mmol/L	Litrede 1 milimol
NH₃-N	Amonyak azotu
mS/cm	MiniSiemens/cm
Kısaltmalar	Açıklama
AchE	Asetilkolinesteraz
ALP	Alkalın Fosfat
AST	Aspartat aminotransferaz
CAS	Chemical Abstract Servise
ChE	Kolinesteraz
CHO	Çin hamsterı yumurtası
Chol	Kolestrol
Cre	Keratin
DNA	Deoksiribonükleik asit
FOX	Ferrik İyon Oksidasyon Ksilenol Turuncu
GOT	Glutamik oksaloasetiktransaminaz
SGOT	Aspartat aminotransferaz
Glu	Glukoz

Kısaltmalar**GSH****GSSG****Hb****Hc****LDH****LC₅₀****LD₅₀****MCV****MDA****RBC****RNA****WBC****Açıklama**

Hücre İçi İndirgenmiş Glutasyon İçeriği

Hücre İçi Oksitlenmiş Glutasyon İçeriği

Hemoglobin

Hematokrit

Laktat dehidrojenaz

Organizmaların yarısını öldüren konsantrasyon

Organizmaların yarısını öldüren doz

Ortalama hücre hacmi

Malondialdehit

Eritrosit

Ribonükleik asit

Lökosit

1. GİRİŞ

Çağımızdaki hızlı nüfus artışı, insanlığın karşılaştığı en büyük sorunlardan biri olan beslenme problemini de beraberinde getirmektedir. Bu problemi çözümlmek amacıyla öncelikli olarak tarım alanlarından maksimum düzeyde ürün alınımının sağlanabilmesi yönündeki çalışmalar hız kazanmıştır. Birim alandan alınan ürün miktarını artırmak için tarım zararlıları ile mücadelede yaygın olarak pestisitler kullanılmaktadır [1].

Yoğun ve bilinçsiz bir şekilde kullanılarak çevre kirliliğine neden olan etmenlerden biri olan pestisitler, ekonomik olmaları ve kullanım kolaylığı nedeniyle, tarımsal ürünü, hastalıkların, yabancı otların, böceklerin ve diğer zararlıların olumsuz etkilerinden koruyarak verimi arttırmayı ve kaliteyi güvence altına almayı amaçlayan önemli kimyasallardır ve tarımda çok önemli yer tutmaktadır [2].

Pestisitler tarım ürünlerine zarar veren canlılara karşı kullanıldığı gibi insan sağlığını tehdit eden zararlılara karşı da kullanılmaktadır. Ayrıca büyükbaş ve küçükbaş hayvanların dış parazitlerine karşı kullanılan ilaçlar da pestisit kavramı içinde yer almaktadır [3].

Pestisitler sucul hayat için potansiyel bir tehlike olarak önem taşırlar, bu kimyasallar canlı organizmaları öldürmek üzere üretilmiş ve kullanılmaktadırlar. Pestisitler hedef organizmaların yanı sıra hedef olmayan organizmalar üzerinde de toksik etki yaparlar [4]. Çünkü bu organizmalar sudaki çözünmüş oksijenle beraber pestisitleri de solungaçları ile alırlar [5].

Pestisitler çeşitli yollarla su ortamlarına ulaştıklarında içerisindeki balık ve diğer canlılara zarar vermektedirler. Pestisitler, su ortamlarına ya uygulama sırasında ya da tarım ve orman sahalarındaki pestisit uygulaması sonrası yağmur suları, drenaj suları, yüzey akışları ve sulama suları ile taşınmaları sonucu su ortamına geçmekte ve buradaki organizmalara etkili olmaktadır [6].

Balıklar, solungaçları vasıtasıyla su ortamından bu kimyasalları absorbe etmek ya da bulaşık matreyalleri besin olarak tüketmeleri sonucu pestisitlerle bulaşabilir yada zehirlenebilirler [7].

Balıklar insanların alternatif besin kaynaklarının önemli bir bölümünü oluşturdıklarından meydana gelebilecek toksik etkilerle özellikle ilgilenilmektedir[8].

Dünyada ve Türkiye’de kullanılan pestisitlerden bazıları kısa süreli zehir etkisi göstererek çabuk bozunabilirken bazıları molekül yapıları nedeniyle hem dayanıklıdır hem de doğada yapısal özelliklerini koruyarak yıllarca bozunmadan kalmaktadırlar.

Molekül yapıları nedeniyle çok geç bozunan pestisitler su ortamında çok düşük konsantrasyonlara seyrilseler bile biyolojik ve fiziksel birikim yoluyla zararlı hatta toksik değerlere ulaşmaktadırlar. Sudaki pestisitler canlıların yağ dokularında birikerek besin zinciri yoluyla balıklara ve bunlarla beslenen kuşlara geçtiklerinde konsantrasyonları hep artış göstermektedir [9].

Pestisitlerde aranılan en önemli özellik zararlı olan hayvan ve bitkilere karşı toksik fakat zararlı olmayan böceklerle, hayvanlara ve insanlara karşı da antitoksik olmasıdır.

Su ortamında çözünmeyen klorlu pestisitler organizmaların yağ dokularında birikirler ve bu birikim besin zinciri yoluyla su ortamındaki tek hücreli canlılardan başlayarak balık ve insanlara kadar ulaşır. İnsanın hem bitkisel hem de hayvansal gıdalarla besleniyor olması ve besin zincirinin son halkasını oluşturmasından dolayı bu tür bileşikler insanda büyük bir yoğunluk kazanır [10].

Karbamatlı pestisitler böceklerle, mantarlara ve yabani otlara karşı yaygın olarak kullanılmaktadır. Dünyada ortalama 20-35 bin ton karbamatlı pestisit kullanıldığı tahmin edilmektedir. Karbamatlar çevrede çok uzun süre kalmamakla beraber bio

akümülyasyona da uğramazlar.¹ Karbamatlar en yeni insektisitlerdir. Karbamik asitin ester veya tuzlarıdır. Dayanıklılık bakımından organofosfatlara benzerler. Organizmalarda birikme özelliği yoktur. Canlı vücudunda organofosfatlar gibi oldukça toksik etki etmektedir.

Organizmalar kirliliğe akut ve kronik olarak iki yolla cevap verirler. Akut etkiler, organizmanın kirleticinin yüksek konsantrasyonuna maruz kaldıktan kısa süre sonra ciddi zararlanmalar ya da ölüm şeklinde ortaya çıkar. Kronik etkiler kirleticinin düşük konsantrasyonlarıyla karşılaştıktan bir müddet sonra ciddi hastalıklar (kanser vb.) olarak belirgin hale gelir [11].

Kimyasal maddelerin potansiyel risklerini ortaya koymak için ilk basamak alg, omurgasız hayvanlar, balık vb. üzerinde yapılan akut toksisite testleridir İlk akut toksisite testleri bakteriler, Clodecera, Rotifera gibi omurgasız hayvanlar ve diğer gruplar kullanılarak yapılmasına rağmen bu testler balıklarda yapılan çalışmaların yerini alamamaktadır. Balıklar sucul ekosistemlerdeki besin zincirinin son halkasında yer alırlar.

Balıklar, akuatik organizmalar içersinde laboratuvar ortamlarında kolaylıkla muhafaza edilebilmeleri ve yetiştirilebilmelerinden dolayı bu testlerin kullanılması açısından oldukça önemli bir yere sahiptir [12].

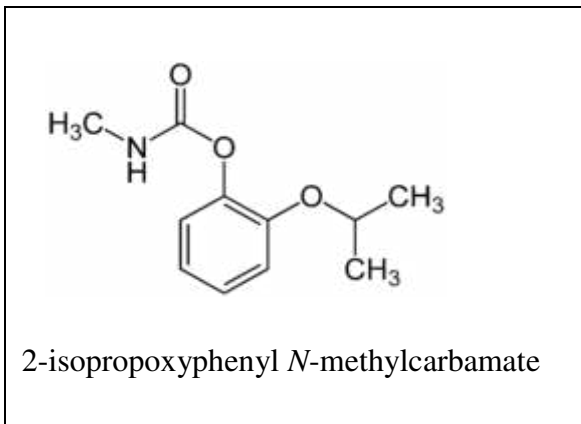
Su kirliliği balıklarda histopatolojik değişikliklere yol açabilir ve bu değişiklikler kirlenmenin derecesini belirlemede bir indikatör olarak kullanılabilir [13].

Son yıllarda yapılan çalışmalarda bir toksik maddenin balık popülasyonları üzerinde yaratabileceği olumsuz durumların en erken tespitinin kan parametreleri ve histopatolojik incelemeler sonucu elde edilebildiği ve toksikolojik çalışmaların tüm dünyada bu yöne yönelmiş olduğu da belirtilmektedir [14-16].

¹ www.Exttoxnet.orst.edu/pips/propoxur.html (Erişim Tarihi: 11.12.2010)

Doğal sulardan elde edilen su ürünlerinin insan sağlığı yönünden doğurabileceği sakıncaların değerlendirilebilmesi için suların içerdikleri kirleticilerin toksik dozlarının ve ekosisteme olumsuz etkilerinin bilinmesi önem taşımaktadır.

Araştırmada karbamatlı bir insektisit olan propoxur (2-isopropoxy phenyl N-metil carbamat) kullanılmıştır (Şekil 1.1). Propoxur 1959 yılında piyasaya giren, non-sistemik, Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) tarafından onaylanmış halk sağlığı amacıyla kullanılan en iyi insektisittir.² Gıda amacıyla üretilen zirai ürünlerde kullanılmamaktadır. Sivrisineklere (sıtma mücadelesi) karşı dış ortamda, zirai alanlarda da sineklere karşı kullanılmaktadır. Ayrıca evcil hayvanlarda bit ve pireye karşı yaygın kullanılır. Binalarda zararlı mücadelesi için akarlar ve karıncalara karşı spreyleme ve diğer yollarla kullanılmaktadır. Etkisi hamamböcekleri, afidler ve çekirgeleri de kapsamaktadır. Hedef haşereye doğrudan etki eder. Propoxurun toz, aerosol, tanecik konsantreleri, oilspray şeklinde çeşitli formülasyonları mevcuttur.³ Propoxurun CAS numarası 114-26-1; kimyasal formülü $C_{11}H_{15}NO_3$; molekül ağırlığı 209,25; suda çözünürlüğü; 2000 mg/L (20 °C); erime noktası 84-87 °C; buharlaşma noktası 300 (120 °C)'dir [17].



Şekil 1.1. Propoxurun kimyasal yapısı

Bu araştırma dünyada ve Türkiye’de geniş bir dağılım gösteren Sazan balığı (*Cyprinus carpio* L.,1758) fingerlinglerine yine zararlı böcek mücadelesinde yaygın

² www.Exttoxnet.orst.edu/pips/propoxur.html (Erişim Tarihi: 11.12.2010)

³ www.Exttoxnet.orst.edu/pips/propoxur.html (Erişim Tarihi: 11.12.2010)

kullanılan karbamatlı insektisit propoxurun (2-isopropoxy phenyl N-methylcarbamate) histopatolojik, hematolojik ve biyokimyasal etkilerini ortaya koymak amacıyla kurgulanmıştır. Bu çalışmadan elde edilecek sonuçlar sucul ortamlarda propoxurun yol açtığı toksik etki düzeyinin belirlenmesini sağlayacak ve ayrıca balıklarda yapılacak diğer histopatolojik ve hematolojik çalışmalarda katkıda bulunacaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Yapılan literatür taramasında propoxurun alabalık ve sazan balıklarında 96 saatlik LC₅₀ değerlerinden başka bir ekotoksikolojik çalışmaya rastlanmamıştır. Akut toksisite: Balık için 96 saatlik akut LC₅₀ değerleri: 12 mg/L iri kepeniz balığı (*Leuciscus idus*); 4-14 mg/L gökkuşuğu alabalığı (*Salmo gairdneri*); 6.6 mg/L mavi yüzgeç güneş balığı (*Lepomis macrochirus*); 10-40 mg/L (96 h) medeka (*Orizias latipes*) LC₅₀ : 10-40 mg/L pullu sazan (*Cyprinus carpio*)⁴.

Organaklorlu, organofosforlu ve karbamat pestisitlerin ekolojik çevredeki uzun süreli olumsuz etkilerinin anlaşılması, daha az kalıcı olan yeni nesil pestisitlerin kullanımının artmasına yol açmıştır. Bu nedenle daha az kalıcı ve memeliler ile kuşlar için daha az toksik olan sentetik piretroid uygulamaları yaygınlık kazanmıştır. Ancak piretroidlerin başta balık olmak üzere karides, istakoz vb. sucul canlılar için aşırı toksik olmalarının araştırmalar sonucunda ortaya çıkmasıyla karbamatlar tercih edilmeye devam etmiştir. Bir çok araştırmacı değişik toksik maddelere maruz kalan balıklarda benzer değişiklikler kaydetmişlerdir. Propoxurun sazan balıkları veya yavrularının kan parametrelerine etkileri henüz araştırılmamış olmakla birlikte; hematolojik ve biyokimyasal parametrelerinin büyük çoğunluğu bilinmekte ve referans aralıklarına ulaşılabilir [Çizelge 2.1].

Çizelge 2.1. Sağlıklı sazan (*Cyprinus carpio* L., 1758) balıklarına ilişkin bazı kan parametreleri

Parametre	Yıldız (1998) (plazma)	Tripathi et al. (2003) (serum)
Hematokrit	28,00±0,49 (%)	—
Toplam plazma proteini	4,20±0,04 (g/dL)	3,0±0,31 (g/dL)
Glukoz	—	48,0±10 (mg/dL)
Ca++	8,80±2,03 (mg/dL)	10,2±0,7 (mg/dL)
Mg+	—	2,4±0,2 (mg/dL)
Cl-	—	113±2 (mmol/L)
K+	5,49±0,48 (mmol/L)	113±2 (mmol/L)
Na+	138±2,46 (mmol/L)	140±4 (mmol/L)

Kan parametreleri toksik maddeye maruz kalan hayvanların yapısal ve fonksiyonel durumunun teşhisinde kullanılan tüm vücutta oluşan patofizyolojinin bir göstergesidir [18].

Balık üzerinde stres yaratan faktörler kanda glukoz ve elektrolit değerlerinin yanında toplam protein konsantrasyonları ve hematokrit değerlerini de etkiler [19-20-21]. Balıklarda elektrolit değişimleri memelilerden daha karmaşıktır. Asit-baz dengesi haricinde balıklarda elektrolit konsantrasyonları sudaki mineral içeriğinden, solungaç fonksiyonundan ve stres yaratan sudaki değişimlerden etkilenirler [22].

Balık hematolojisinde kullanılan rutin diyagnostik teknikler rutin insan tekniklerinin modifikasyonudur.

Ratlarda sub-kronik oral dozda propoxur, eritrositlerdeki antioksidan savunma mekanizmaları üzerinde önemli değişikliklere sebep olmuş; asetilkolin esterase (AChE) aktivitesi de önemli derecede inhibe edilmiştir [23].

Erişkin ratlarda yapılan bir başka çalışmada yedi N-metil karbamatin etkileri karşılaştırılmış; 20 mg/kg propoxura oral yolla maruz kalan erkek ratlarda beyin kolin esterase aktivitesinde %40 inhibisyon tespit edilmiştir. Eritrositteki ChE aktivitesi beyin enziminden daha yüksek oranda inhibe olmuştur [24].

Bir grup araştırmacı tarafından sazan yavruları 28 gün benzer pestisit olan LASSO MTX'e maruz bırakıldıklarında hematokrit hariç diğer bütün hematolojik ve eritrosit parametrelerinde önemli derecede azalma tespit edilmiş; lökositlere etki tespit etmemişlerdir. Histopatolojik olarak da kontrol grubuna göre az farklılık bulmuşlardır. En fazla doku hasarı solungaç ve karaciğerde bildirilmiştir [25].

Sentetik piretroitlerden deltamethrin'nin subletal dozlarının Nil tilapısı (*Oreochromis niloticus*) fingerlinglerinde davranış değişiklikleri, solungaçlarda hiperemi, sekonder lamellerde füzyon ve telanjiektazi, karaciğerde hidropik dejenerasyona yol açtığı gözlenmiştir [26].

Tilapia guineensis juvenilleri organofosforlu bir pestisit olan chloropyrifos'un subletal dozlarına maruz bırakıldıklarında eritrosit ve lökosit sayılarında anlamlı bir azalma tespit edilmiştir [27].

Organafosforlu pestisitlerden monochrotophos'un *Channa punctatus*'ta hematolojik bozuklukları indüklediği, metabolik bozukluklara neden olarak balıkların genel sağlığını bozduğu ortaya konmuştur [28].

Organaklorlu pestisitlerden olan endosulfana maruz kalan *Macrobrachium malcolmsonii* ile yapılan bir çalışmada araştırmacılar tatlısu karidesinin dokularındaki biyokimyasal stres yanıtlarını incelemişlerdir. Protein düzeyi kontrole göre azalma göstermiştir [29].

Endosulfanın sub-letal dozlarına maruz bırakılan sazan balıkları üzerinde yapılan bir çalışmada endosulfanın biyokimyasal ve hematolojik parametreleri etkileyerek yüksek düzeyde metabolik strese yol açtığı gözlemlenmiştir [30].

Cyprinus carpio 'da malathionun, 7 ve 15 günlük dönemlerde total, yapısal ve çözülebilir proteinlerde düşüşe, serbest aminoasitlerde ve proteaz aktivite seviyelerinde ise artışa neden olduğu gözlenmiştir [31].

Cyprinus carpio fingerlingleri organofosforlu insektisitlerden olan fenitrothion'un subletal dozlarına maruz bırakıldığında solungaç, karaciğer, böbrekler, dalak, gonadlar, kas ve deride anlamlı histolojik değişimler gözlenmiştir. Hematokrit ve eritrosit sayısı azalmış, lökosit ve trombosit sayısı değişmemiştir. Plazma kortizol, glikoz, sodyum, potasyum, fosfor, beyin MDA ve FOX düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir [32].

Sentetik piretroitlerden olan cyfluthrin'in subletal dozlarına maruz bırakılan sazan balıkları ile yapılan çalışmada cyfluthrin'in lipid peroksidasyonunu engelleyerek oksidatif strese neden olduğu ve sodyum kanallarını bloke ettiği ortaya konmuştur[33].

Sentetik piretroitlerden olan cypermethrinin sub-letal dozlarının *Labeo rohita* fingerlinglerinde biyokimyasal parametreler ve enzim aktiviteleri üzerindeki etkisi incelenmiştir. Sonuçta RNA düzeyi azalırken DNA düzeyinin arttığı, alkalen fosfataz tükenirken asit fosfataz'ın değişmediği, beyin asetilkolin esterase aktivitesinin önemli oranda azaldığı, laktat dehidrojenaz aktivitesinin beyin ve karaciğerde yükselirken böbrekte inhibe edildiği saptanmıştır. Serum protein seviyesinde azalma, kan glukoz düzeyinde artış, total lökosit sayısında kontrol grubuna göre artış, hemoglobin yüzdesi ve total eritrosit sayısında azalma gözlenmiştir [34].

Cypermethrinin subletal dozlarının gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üzerindeki hematolojik, biyokimyasal ve histopatolojik etkilerinin gözlemlendiği bir çalışmada hematolojik parametrelerden eritrosit sayısı, trombosit sayısı, hemoglobin ve eritrosit sedimentasyon oranı, deney grubundaki balıklarda kontrol ile karşılaştırıldığında artış görülürken, toplam lökosit sayısı ve hematokrit değerinde ise azalma saptanmıştır. Biyokimyasal parametrelere bakıldığında ALP, GPT ve LDH yükselirken, GOT, Chol, Ca ve P düşmüştür. Glu, Cre, TP ve Na değerleri ise farklı dozlarda farklı tepkiler göstermiştir. Histopatolojik incelemeler sonucunda; cypermethrinin toksik etkisi ile, karaciğerde hepatositlerde hidrofik dejenerasyon, yağlanma, hemoraji ve hücresel nekroz, böbreklerde hücresel dilatasyon, glomerüllerde hücresel poliferasyon ve nekroz tipi septomlar tespit edilmiştir [35].

Metribuzine maruz kalan sazan balıklarındaki hematolojik, biyokimyasal ve histopatolojik etkilerin gözlemlendiği bir çalışmada, eritrosit sayısı anlamlı düzeyde yüksek, amonyak düzeyi, aspartat aminotransferaz, laktat dehidrojenaz, keratin kinaz ve laktat yüksek, eritrosit hacmi, eritrosit hemoglobin düzeyi ve keratin anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Hücre şekli değişiklikleri, hepatositlerin yağ içerdiği, kaudal böbrek tübüllerinde yıkım gözlenmiştir [36].

Bir grup araştırmacı karbamatlı üç insektisit; cartap, propoxur ve carbaryl'in *Salmo trutta* L., *Cyprinus carpio* L., *Poecilia reticulatus* Peters, *Aedes aegyptia* L. and *Daphnia magna* Straus gibi akuatik organizmalar üzerindeki akut toksik etkilerini incelemişlerdir. Bu üç insektisit seçilen akuatik organizmalar üzerindeki 96 ve 48

saatlik LC₅₀ değerleri tespit edilmiştir. Sonuç olarak bu üç insektisitten cartapın en toksik, propoxurun ise en az toksik olduğunu saptamışlardır [37].

Hindistan kedi balığı (*Heteropneustes fossilis*) 5,20 ppm propoxura 3, 6, 12, 48 ve 96 saat boyunca maruz bırakıldığında 12. saatte kas glikojeninin tükendiği ve hepatik glikojenoliz ortaya çıktığı, 3, 12, 48 ve 96. saatlerde glikoz seviyesinin yükseldiği gözlenmiştir. Kan pirüvat düzeyinde 12. ve 48. saatlerde anlamlı artış, 6. Saatte laktik asit düzeyinde artış, 12, 48 ve 96. saatlerde ise laktik asit düzeyinde düşüş saptanmıştır. Gözlenen akut stres sendromları sonucunda propoxurun asetilkolinesteraz aktivitesi ve karbonhidrat metabolizması üzerinde etkili olduğu saptanmıştır [38].

Oreochromis niloticus, *Chrysichthys nigrodigitis*, *Clarias gariepinus* juvenilleri lindane, pentachlorophenol, propoxur ve makkesim pestisit karışımına maruz bırakılarak altı ay süreyle gözlemlenmişlerdir. Pestisit karışımının balıkların büyüme ve üremeleri üzerinde olumsuz etkilerin olduğu saptanmıştır [39].

Carassius auratus ile yapılan çalışmada balıklar tek başına propoxura ve propoxur ile beraber isoprocab ve chlorpyrifos'a maruz bırakılarak bu pestisitlerin asetilkolin esteraz ve glutatyon S-transferaz enzimleri üzerine etkileri incelenmiştir. Sonuçta beyin ve kas asetilkolin esteraz aktivitesinin anlamlı düzeyde inhibe edildiği, solungaç glutatyon S-transferaz aktivitesinde inhibe olduğu ortaya konmuştur [40]. Dört karbamat bileşeninin, aldikarb ve metabolitlerinin (aldikarb sülfon ve aldikarb sülfoksit) ve propoxurun memelilerdeki hücre modeli CHO-K1 hücrelerinin sülfür redoks döngüsüne katılan enzimlerin aktiviteleri ve glutatyon içeriği üzerindeki aktiviteleri saptanmıştır. Karbamat ekspozürünün hücre içi indirgenmiş glutatyon içeriğinin (GSH) azalmasına sebep olurken, oksitlenmiş glutatyonda (GSSG) hiçbir değişiklik gözlenmemiştir [41].

Nil tilapia'sı üzerinde yapılan çalışmada chlorpyrifosmethyl'in çok toksik olduğu rapor edilmiştir [42].

Değişik araştırma grupları erken gelişim evrelerinde pestisitlerin toksik etkisinin önemini vurgulamış, farklı pestisit gruplarının akut ve subletal uygulaması sonucunda balıklarda huzursuzluk, yüzme şeklinde düzensizlik, denge kaybı, mukus salgısında artış ve renk açılması gibi davranış değişimleri gözlemlemişlerdir.

3.MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Deney yeri

Araştırma, Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapılmıştır.

3.1.2. Balık materyali

Bu çalışmada, klinik olarak sağlıklı ve herhangi bir toksik maddeye maruz kalmamış olan, sazan balığı (*Cyprinus carpio* L.,1758) fingerlingleri ($50,90 \pm 11,01$ g ağırlığında ve $15,26 \pm 0,99$ cm boylarında) kullanılmıştır. Balıklar Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Akdeniz Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Kepez Ünitesinden temin edilmiştir. Balıkların kan numunelerinde hematolojik ve biyokimyasal analizler ile doku numunelerinde histolojik inceleme yapılmıştır. Balıkların deneylerde kullanılması Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 21.04.2010 tarih ve 06 sayılı toplantısı ile onaylanmıştır.

3.1.3. Pestisit materyali

Deney maddesi olarak teknik propoxur (%96) kullanılmıştır. Propoxur analitik saflıkta asetonda çözülerek uygulanmıştır (Chanzhou Kangmei Che. Ind. Co. Ltd.).

3.1.4. Akvaryumlar ve su kalitesi

Deneyde en az 48 saat dinlendirilmiş ve daha sonra havalandırılarak kloru giderilmiş şehir suyu kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan suyun parametreleri günlük olarak YSI marka portatif, arazi tipi oksijenmetre kullanılarak ölçülmüştür. Amonyak konsantrasyonları Nessler reaktifi kullanılarak spektrofotometrik ölçülmüştür.

Deneyde kullanılan akvaryum suyunun su kalitesi değerleri çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan suyun kalite değerleri

Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$)	23
Kalsiyum (mg/L)	54
Total sertlik (CaCO_3) mg/L	70
pH	7,82
DO (Çözülmüş oksijen, mg/L)	6,1
İletkenlik (mS/cm)	0,28
Amonyak ($\text{NH}_3\text{-N}$, mg/L)	0,001

3.1.5. Araştırmada kullanılan diğer araç ve gereçler

Teraziler

Kimyasal maddelerin tartılmasında 0.001 g’a balıkların tartılmasında ise 0.01 g’a duyarlı teraziler kullanılmıştır.

Oksijenmetre

Araştırma süresince ortam suyunun çözülmüş oksijen değerlerini ölçmede taşınabilir oksijenmetre (YSI model 51B) kullanılmıştır.

pH metre

Alınan su örneklerinin pH değerleri 0,01 pH’ya duyarlı laboratuvar tipi dijital pH metre (Metrohm Herisau Digital pH meter E 532) ile ölçülmüştür.

Termometre

Araştırma süresince su sıcaklığı termometre ile ölçülmüştür.

Spektrofotometre

Amonyak konsantrasyonları Nessler reaktifi kullanılarak ölçülmüştür.

Hematokrit cihazı

Hematokrit santrifüj (Hettich) heparinli kapiler tüpler kullanılmıştır.

Santrifüj cihazı

Soğutmalı mikrosantrifüj Hettich R220 kullanılmıştır.

Mikrotom

Parafin bloklardan doku kesitlerinin alınmasında Thermoshandon mikrotom kullanılmıştır

Mikroskop

Solungaçların histolojik kesitlerinin incelenmesinde Leitz ve görüntülenmesinde Nikon ve Leica marka fotoğraf çekimi yapabilen mikroskoplar kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Deney balıklarının hazırlanması

Balıklar üreticiden temin edilmiş; deneye başlamadan 15 gün önce laboratuvar şartlarına uyum için deney akvaryumlarına yerleştirilmiştir. Onbeş gün süren uyum periyodunda balıklar vücut ağırlıklarının %2'si oranında beslenmişlerdir (%45 proteinli ticari sazan yavru yemi). Akvaryumlar her gün düzenli olarak sifonlanarak yem artığı, dışkı gibi atıkların akvaryumda birikmesine engel olunmuştur. Deneyin başlama tarihinden önceki dört gün içinde balıklarda görülen ölüm oranının %5'den fazla olmamasına dikkat edilmiştir [43-44].

Balıklar rastgele olmak üzere Kontrol (C) ve Deney (E) grubuna ayrılmışlardır. Deneme öncesinde her gruptan yine rastgele 2'şer balık alınarak nekropsi yapılmış

değişik doku ve kan örnekleri alınmıştır. Dozlamadan önce 48 saat ve deney süresince balıklar aç bırakılmıştır.

3.2.2. Deney yöntemi ve uygulama planı

Deneylerde kemikli bir balık olan sazan balığı (*Cyprinus carpio* L.,1758) fingerlingleri kullanılmıştır. Pestisit ve diğer çevresel kirleticiler hedef olmayan canlılara toksisite göstermekte; bunlardan da en fazla erken gelişme dönemleri (larva, juvenil, fingerling gibi etkilenmektedir. Propoxurun sazan balıklarına 96 saatlik akut LC₅₀ değeri A.B.D. Çevre Ajansı Ecotox veritabanında 10 mg/L rapor edilmiştir.⁴ Araştırmada balık sayısını azaltmak ve akut toksisite deneylerini tekrarlamamak için propoxur (%96, Hacettepe Üniversitesi, İnsektisit Test laboratuvarından Dr. Oner Koçak'tan temin edilmiştir) konsantrasyonu bu LC₅₀ değeri baz alınarak; yarısı olan 5 mg/L seçilmiştir. Dozlamadan önce akvaryumların su kalitesi parametreleri ölçülmüştür. Dozlamadan önce ve deney süresince davranış değişiklikleri takip edilmiştir. Fotoperiyot 12:12 h olarak ayarlanmıştır. Deneyde, kontrol (C; propoxur ile dozlanmayan) ve deney (E; 5 mg/L konsantrasyonda propoxura maruz bırakılan) olmak üzere iki grup (20'şer sazan fingerling) oluşturulmuştur. Deney dozlamadan itibaren 96 saat devam etmiştir.

3.2.3. Kan parametreleri

Analiz edilecek kan parametrelerinin seçiminde çeşitli araştırmacılar tarafından sub-letal stres yanıtını ölçmede en duyarlı ve indikatör olarak belirtilen parametreler dikkate alınmıştır [45-48].

Kan örneklerinin alımı

Kan örnekleri, buz anestezisi altında kalpten punksiyonla alınmıştır. Bu amaçla sol taraf üzerine yatırılan balığın solungaç kapağı kaldırıldıktan sonra kleitrum

⁴www.Exttoxnet.orst.edu/pips/propoxur.html (Erişim tarihi: 11/12/2010)

kemiğinin oluşturduğu pektoral kemerin hemen önünden alt üçte bir mesafeden 5 mL'lik steril ve tek kullanımlık yeşil uçlu enjektörler ile 40-45 derecelik bir açı yapacak şekilde kalbe girilerek kan çekilmiştir. Kanın pıhtılaşmasını önlemek amacıyla antikoagürent olarak ticari adı nevparin olan heparin kullanılmıştır. Kan çekilecek enjektörün duvarları ticari heparin solüsyonu ile sıvanarak heparinize edilmiştir [49-50].

Balıktan kan alımının yaratacağı stresi en aza indirmek amacıyla işlemin 40-50 saniyeyi geçmemesine dikkat edilmiş ve ilk punksiyonla kan alınamayan balık bırakılmıştır. Kan örnekleri deney sonunda bir kez alınmıştır [51].

Hematokrit değerinin belirlenmesi

Deney bitiminde her iki gruptaki hayvanların kanı buz anestezisi altında heparinli enjektör kullanılarak kalpten punksiyonla alındıktan sonra soğutmalı mikrosantrifüjde (Hettich R220) plazma ayrılmış ve -20°C'de analiz yapılana kadar saklanmıştır. Tüm kandan ayrıca rutin hematolojik yöntem ile hematokrit santrifüjünde (Hettich) heparinli kapiler tüpler kullanılarak hematokrit yüzde olarak (%Hct) hesaplanmıştır. Kan numunelerinde hücre sayımı kan alınmasından bir saat içinde rutin yöntem kullanılarak Natt-Herrick çözeltisi ile Thoma lamında yapılmıştır. Ortalama eritrosit hacmi (MCV, fL) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$MCV = \frac{Hct(\%)*10}{RBC(milyon / \mu L)}$$

3.2.4. Plazma analizleri

Plazmada biyokimyasal analizler Roche P800 Modüle ve kitleri kullanılarak; glukoz (mg/dL), total protein (g/dL), kolesterol (mg/dL), trigliserit (mg/dL), sodyum (mEq/L), potasyum (mEq/L), kalsiyum (mg/dL), klor (mEq/L), fosfor (mg/dL) ve AST (SGOT; U/L) testleri yapılmıştır.

3.2.5. Balıklarda histopatolojik incelemeler

Deneyler sonunda propoxurun subletal dozu (5 mg/L)'nin dokular üzerinde yaptığı etkileri araştırmak amacıyla 6 balık örneği kullanılmıştır. Dekapitasyon ile öldürülen balıkların nekropsileri yapılmış ve tüm dokular Bouin tespit sıvısına alınmıştır. Bouin tespit sıvısına alınan dokular, 24 saat sonra %70'lik etil alkole aktarılmışlardır [52].

Doku takiplerinin gerçekleştirilmesi

Tespit edilen doku örnekleri 3-5 mm kalınlığında kesilerek plastik kasetlere yerleştirilmiştir. Küçültülen dokular ikişer saat kalacakları % 70, 80, 90, 96 ve Absolü etil alkol serilerinden geçirilmişlerdir. Daha sonra dokular iki saat süre ile ksilolde bekletilmiştir. 56-58⁰C'de ksilollü parafin ve parafinde ikişer saat bekletme sonunda gömülmüşlerdir. Doku gömmek için parafin dispencer yardımıyla özel kalıplar içerisinde eritilen parafin doldurularak doku parçaları yerleştirilmiş ve dokular parafin bloklara alınmıştır. Bloklar kullanılıncaya kadar buzdolabında bekletilmiştir. Parafin bloklardaki dokulardan mikrotom cihazı (5µm kalınlığında kesim yapabilen Thermoshandon marka) ile 5-6 mikron kalınlığında alınan kesitler lam üzerine yerleştirilmiş ve 60⁰C etüvde kurumaya bırakılmıştır. Kesitler Harris'in Hematoksilen-Eozin boyama yöntemine göre boyanarak sabit preparat haline getirilmiştir. [53]. Preparatlar histolojik yönden değerlendirilmiştir. Mikroskopik incelemede Leica fotoğraf kamerası monte edilmiş Leitz marka mikroskop kullanılmıştır.

Preparatların incelenmesi

Balık örneklerinde doku takiplerinin gerçekleştirilmesinde, preparatların incelenmesi ve değerlendirilmesinde Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nın olanaklarından yararlanılmıştır.

3.2.6. İstatiksel analizler

Veriler bazı balıklardan numune temin edilememesi sonucunda örnek sayısının azalmasından dolayı kontrol ve deney grupları arasında incelenen parametreler için SPSS 11.5 paket programında Mann-Whitney U non-parametrik yöntemi kullanılarak ve önem seviyesi 0.05 olarak analiz edilmiştir.

4. DENEYSEL BULGULAR

Bu araştırmada akuatik ekosistemin indikatör organizması balıklara yüksek toksisite gösterdiği düşünölen ve kullanımı pek çok ölkede yasaklanan karbamat grubu insektisitlerden propoxur kullanılmıştır. Araştırmanın hipotezi akut LC₅₀ değeriinin çok altında sub-letal doz seviyesinde (5 mg/L) teknik propoxura çevresel kirleticilere ergin balıklardan daha hassas olduğu bilinen sazan fingerlingleri maruz bırakıldıklarında son-nokta olarak mortalite (ölüm) görölmeden ve davranış değışikleri olmadan hematolojik, biyokimyasal ve histopatolojik etkiler görölabilir mi? olarak kurulmuştur. Bu amaçla laboratuvar şartlarında sazan fingerlingleri 15 gün adaptasyon süresi sonunda 5 mg/L konsantrasyonda teknik propoxura maruz bırakılarak, 96 saat sonunda nekropsileri yapılmış; kan ve doku örnekleri alınarak analiz edilip değeriendirilmiştir. Deneylerde formölasyon yerine teknik materyal tercih edilmesinin sebebi formölasyonlarda terkbilin çoğunu aktif madde haricinde stabilizatörler, sinerjistler vb. maddelerin oluşturmasıdır.

Balıklarda deney süresi 96 saat süresince türe özđü davranışlar görölmiş; propoxura bağlı davranış değışikliği olarak yan yatan iki balık gözlenmiştir. Sazan fingerlinglerinin nekropsilerinde iç organlarda makroskopik bulguya rastlanmamıştır.

4.1. Hematolojik Bulgular

Teknik propoxura (5 mg/L) 96 saat boyunca statik deney sisteminde maruz kalan sazan fingerlinglerinin kan hücre sayımları, hematokrit ve MCV değerieleri çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Sazan fingerlinglerinin Kontrol (C) ve Deney (E; 5 mg/L propoxur) gruplarında hematolojik parametreleri.

Kan parametresi	Gruplar	
	Kontrol (C)	Deney (E)
Total Eritrosit Sayımı ($10^3/\mu\text{L}$)	1073,59 $\pm$ 93,29 (n = 13)	1503,14 $\pm$ 100,03 ^{**} (n = 17)
Total Lökosit Sayımı ($10^3/\mu\text{L}$)	4,15 $\pm$ 4,14 (n = 13)	7,41 $\pm$ 0,97 [*] (n = 17)
Trombosit Sayımı ($10^3/\mu\text{L}$)	0,92 $\pm$ 0,29 (n = 13)	0 [*] (n = 17)
Hematocrit (%)	15.59 $\pm$ 1.46 (S.D. = 5.66) (n = 15)	15.07 $\pm$ 1.16 (S.D. = 4.65) (n = 16)
MCV (fL)	130,92 $\pm$ 16,26 (n = 12)	103,68 $\pm$ 8,76 (n = 16)

Değerler ortalama $\pm$ standard hata (SEM) olarak verilmiştir. Anlamlı farkları gösterir, * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

Çizelge 4.1’de görüleceği üzere propoxura maruz kalan sazan fingerlinglerinde toplam eritrosit sayısı 1073,59. 10^3 ’ten 1503,14. 10^3 ’e yükselmiştir. Bu artış istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0,01$). Deney grubundaki balıklarda toplam lökosit sayısı 4,15. 10^3 ’ten 7,41. 10^3 ’e yükselmiştir. Bu artış istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0,05$). Trombosit sayısındaki değişme istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır ($P > 0,05$). Deney grubundaki balıklarda hematokrit değeri (%Hct) 15,59’dan 15,07’ye düşmüştür. Bu fark istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır. Deney grubundaki balıklarda MCV değeri 130,92’den 103,68’e düşmüştür. Bu fark istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır.

4.2. Biyokimyasal Bulgular

Sazan fingerlinglerinin plazmasında yapılan biyokimyasal analizlerde kontrol grubuna göre deney grubunda plazma total proteininde, klor ve AST’de ($P < 0.01$) ve sodyumda artış ($P < 0.05$) belirlenmiştir. Diğer biyokimyasal parametrelerde istatistiksel bakımdan anlamlı fark görülmemiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Kontrol (C) ve Deney (E, 5 mg/L konsantrasyonda teknik propoxura 96 saat maruz kalan) gruplarında sazanların plazma elektrolitleri, glukoz, total protein, kolesterol, trigliserit ve AST (SGOT) değerleri.

Kanda Parametre	Gruplar		P
	Kontrol (C)	Propoxur (E; 5 mg/L)	
Plazma Glukoz (mg/dL)	63.33 ± 5.32 (n = 6)	77.62 ± 13.76 (n = 13)	0.313
Plazma Total Protein (g/dL)	1.8 ± 0.14 (n = 6)	2.59 ± 0.14** (n = 13)	0.001
Plazma Kolesterol (mg/dL)	177.33 ± 13.59 (n = 23)	209.55 ± 31.32 (n = 11)	0.393
Plazma Trigliserit (mg/dL)	57.83 ± 15.95 (n = 6)	68.36 ± 10.26 (n = 11)	0.482
Plazma Sodyum (mEq/L)	139.83 ± 1.83 (n = 6)	149.73 ± 4.31* (n = 11)	0.023
Plazma Potasyum (mEq/L)	3.05 ± 0.45 (n = 6)	2.56 ± 0.09 (n = 11)	0.131
Plazma Kalsiyum (mg/dL)	57.10 ± 0.22 (n = 6)	7.66 ± 0.17 (n = 12)	0.121
Plazma Klor (mEq/L)	108.2 ± 1.83 (n = 6)	118 ± 2.60** (n = 11)	0.006
Plazma Fosfor (mg/dL)	4.42 ± 0.22 (n = 6)	4.60 ± 0.41 (n = 13)	0.660
AST (SGOT) (U/L)	19.4 ± 9.94 (n = 5)	198.5 ± 60.21** (n = 6)	0.01

Değerler ortalama ± standard hata (SEM) olarak verilmiştir. Anlamlı farkları gösterir, * p< 0.05; ** p < 0.01.

Deney grubundaki balıkların plazma glukoz değerleri (77.62 ± 13.76) kontrol grubuna (63.33 ± 5.32) göre artarken aralarındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmamıştır (P>0,05).

Toplam plazma protein değerleri kontrol grubunda 1.8 ± 0.14 iken 96 saat propoxura maruz kalan balıklarda 2.59 ± 0.14 'e yükselmiştir. Kontrol ve deney grupları arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur (P<0,01).

Deney grubundaki balıkların plazma kolestrol değerleri (209.55 ± 31.32) kontrol grubuna (177.33 ± 13.59) göre artarken aralarındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ($P>0,05$).

Deney grubundaki balıkların plazma trigliserit değerleri (68.36 ± 10.26) kontrol grubuna (57.83 ± 15.95) göre artarken aralarındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ($P>0,05$).

Plazma sodyum değerleri kontrol grubunda 139.83 ± 1.83 iken 96 saat propoxura maruz kalan balıklarda 149.73 ± 4.31 'e yükselmiştir. Kontrol ve deney grupları arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$).

Deney grubundaki balıkların plazma potasyum değerleri (2.56 ± 0.09) kontrol grubuna (3.05 ± 0.45) göre azalırken aralarındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ($P>0,05$).

Deney grubundaki balıkların plazma kalsiyum değerleri (7.66 ± 0.17) kontrol grubuna (57.10 ± 0.22) göre azalırken aralarındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ($P>0,01$).

Plazma klor değerleri kontrol grubunda 108.2 ± 1.83 iken 96 saat propoxura maruz kalan balıklarda 118 ± 2.60 'e yükselmiştir. Kontrol ve deney grupları arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0,01$).

Plazma fosfor değerlerinin kontrol grubu ile deney grubunda değişmediği gözlenmiştir.

AST (SGOT) değerleri kontrol grubunda 19.4 ± 9.94 iken 96 saat propoxura maruz kalan balıklarda 198.5 ± 60.2 'e yükselmiştir. Kontrol ve deney grupları arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0,01$).

4.3. Histopatolojik Bulgular

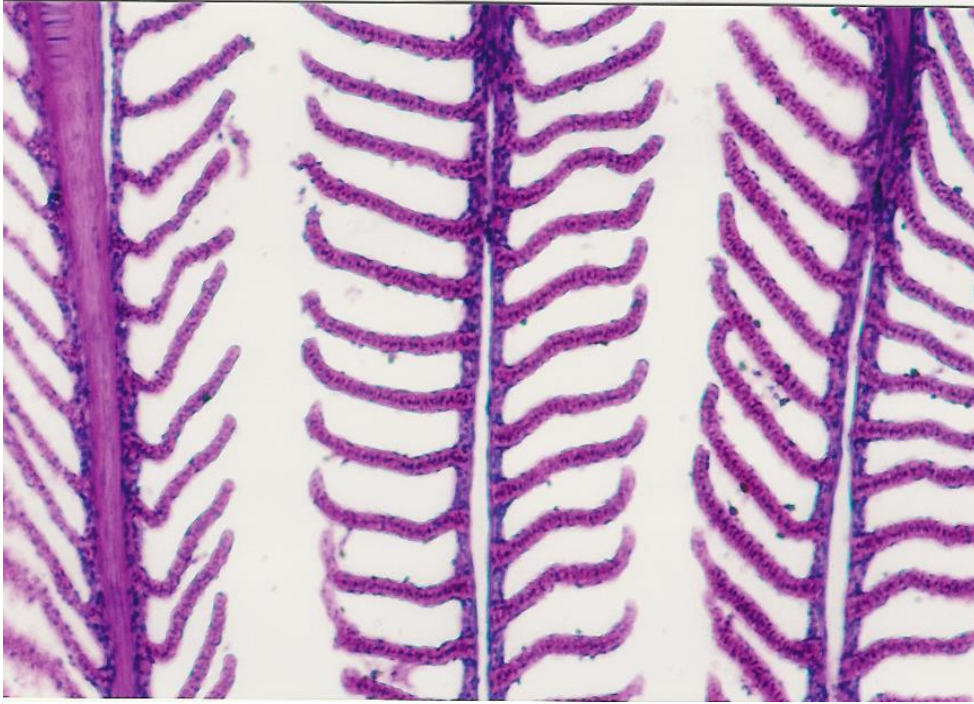
96 saat süreyle sub-letal (5 mg/L) propoxura maruz kalan sazan fingerlinglerinin tüm organları histolojik olarak incelenmiştir. Ayrıca kontrol ve kontrol aseton grubu balıklarının dokuları da aynı işlemlere maruz bırakılarak değerlendirilmiştir. Yapılan mikroskopik incelemeler sonucu kontrol ve aseton katılmış kontrol grubuna maruz kalan balıkların tüm organlarından alınan dokuları ile subletal propoxura maruz kalan balıkların dalak, bağırsak, kas, deri dokularında histopatolojik bir bulguya rastlanmamıştır. Ancak aynı deney sonucu balıkların solungaç, böbrek, karaciğer ve beyin dokularında histopatolojik bulgular saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar çizelge 4.3., 4.4., 4.5. ve 4.6. 'de gösterilmiştir.

4.3.1. Solungaç dokusuna ilişkin bulgular

Çizelge 4.3. Subletal konsantrasyonda propoxura maruz kalan sazanların solungaç dokularında görülen histopatolojik bulgular

Solungaç dokusu	İncelenen balık sayısı	Görülen balık sayısı
Hiperemi	6	6 (%100)
Telangiyektazi	6	4 (%66)
Sekonder lamellalarda füzyon	6	2 (%33)
Hiperplazi	6	3 (%50)
Branchitis	6	5 (%83)
Epitel kalkması	6	3 (%50)
Epitelde deskuamasyon	6	2 (%33)

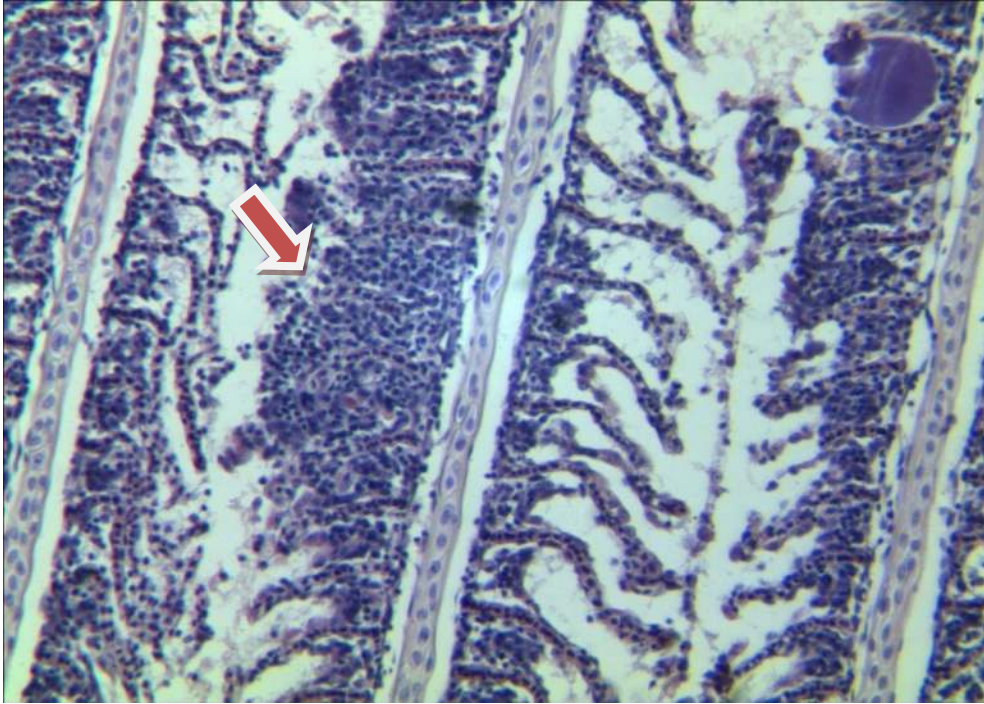
Çizelgede 4.3'te görüldüğü üzere, 96 saat süreyle propoxura maruz kalan sazanların solungaç dokularının tamamında hiperemi (%100) saptanırken, %66'sında telangiyektazi, %33'ünde sekonder lamellalarda füzyon, %50'sinde hiperplazi, %83'ünde branchitis, %50'sinde epitelium kalkması, %33'ünde epitelde deskuamasyon kaydedilmiştir.



Resim 4.1. Sazan balıklarında kontrol grubuna ait solungaç kesitleri (H& E, $\times 100$)



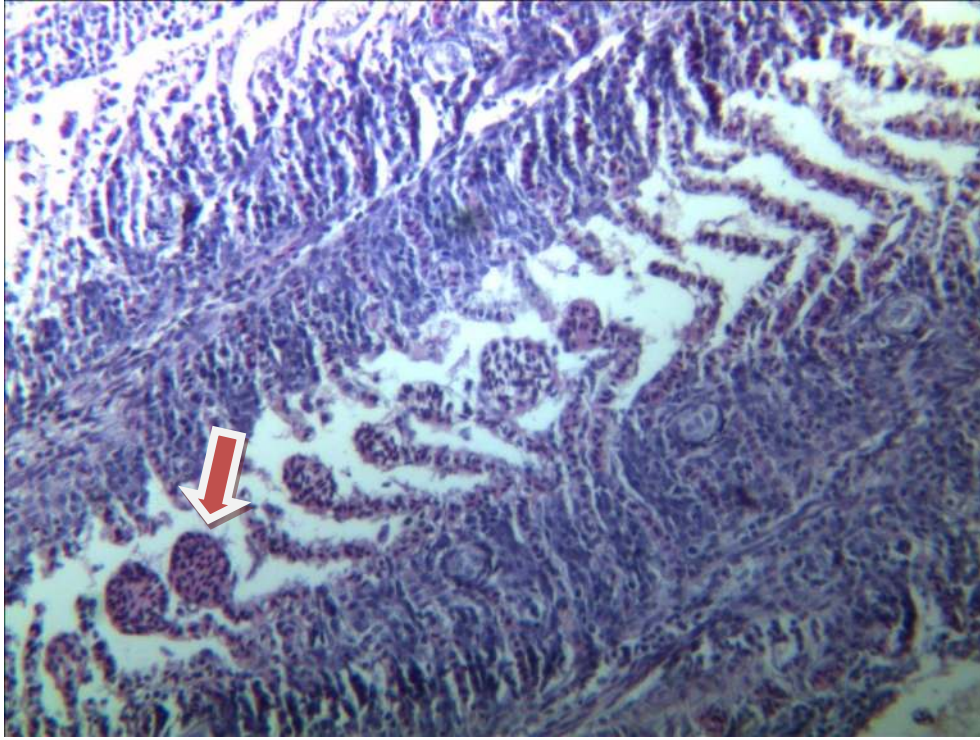
Resim 4.2. Sazan balıklarında solungaçta hiperemi (ok) (H& E, $\times 100$)



Resim 4.3. Sazan balıklarında solungaçlarda hiperplazi (ok) (H& E, $\times 100$)



Resim 4.4. Sazan balıklarında solungaçlarda epitelyum kalkması (ok) (H& E, $\times 100$)



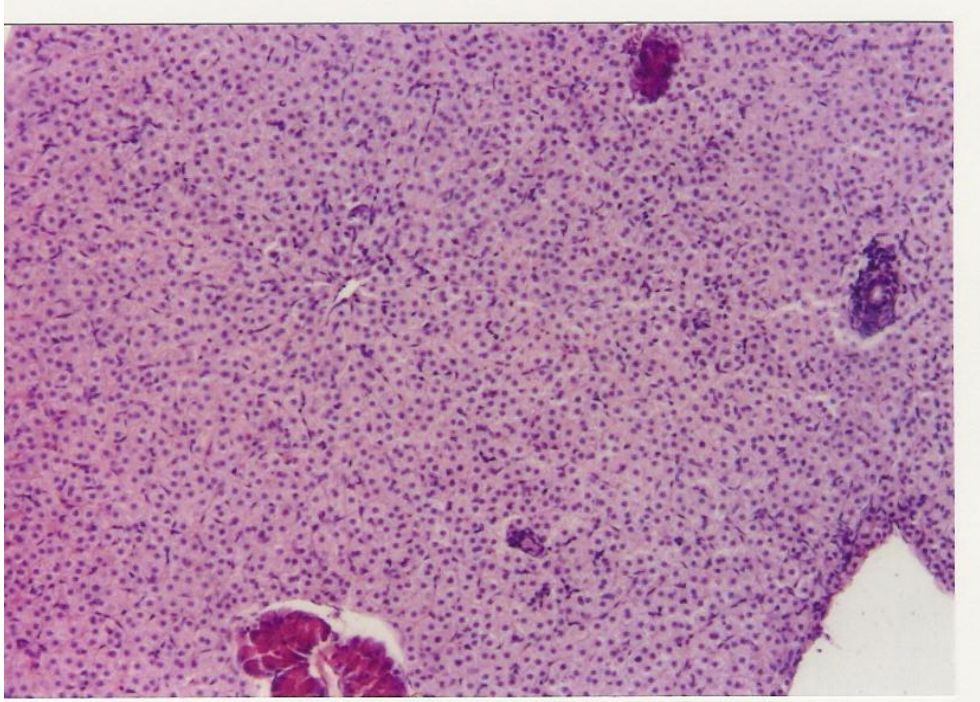
Resim 4.5.Sazan balıklarında solungaçta telengiektazi (ok) (H& E, ×100)

4.3.2. Karaciğer dokusuna ilişkin bulgular

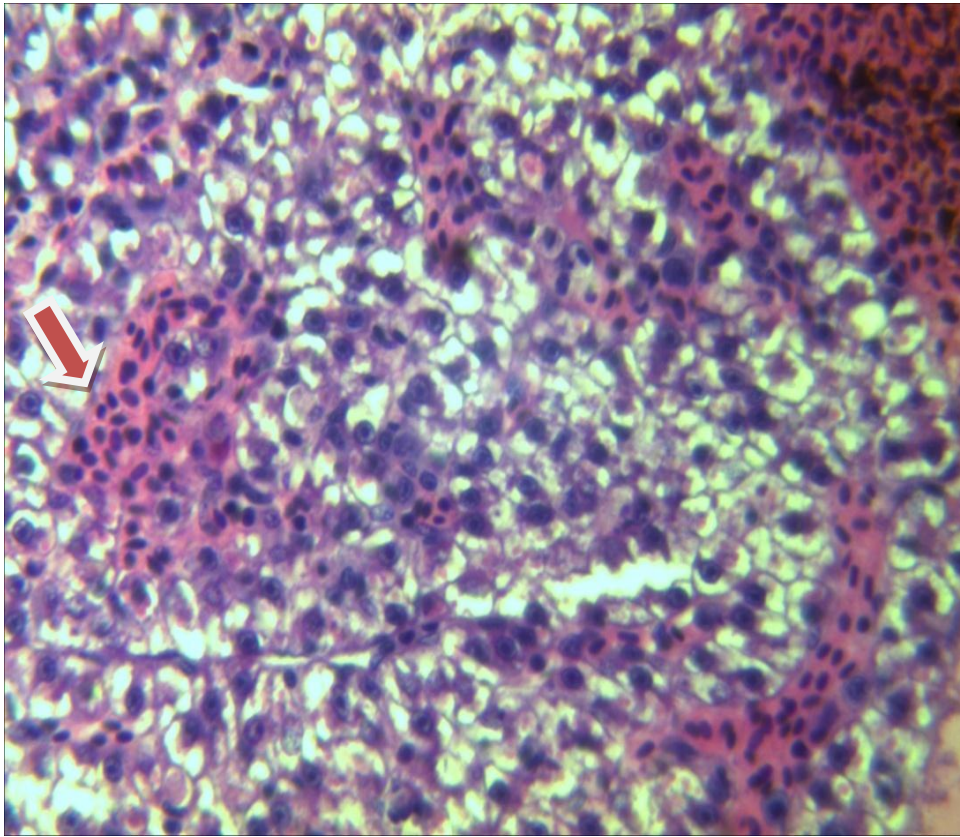
Çizelge 4.4. Subletal konsantrasyonda propoxura maruz kalan sazanların karaciğer dokularında görülen histopatolojik bulgular

Karaciğer dokusu	İncelenen balık sayısı	Görülen balık sayısı
Pasif hiperemi	6	6 (%100)
Albumin dejenerasyonu	6	2 (%33)
Hidropik dejenerasyon	6	4 (%66)

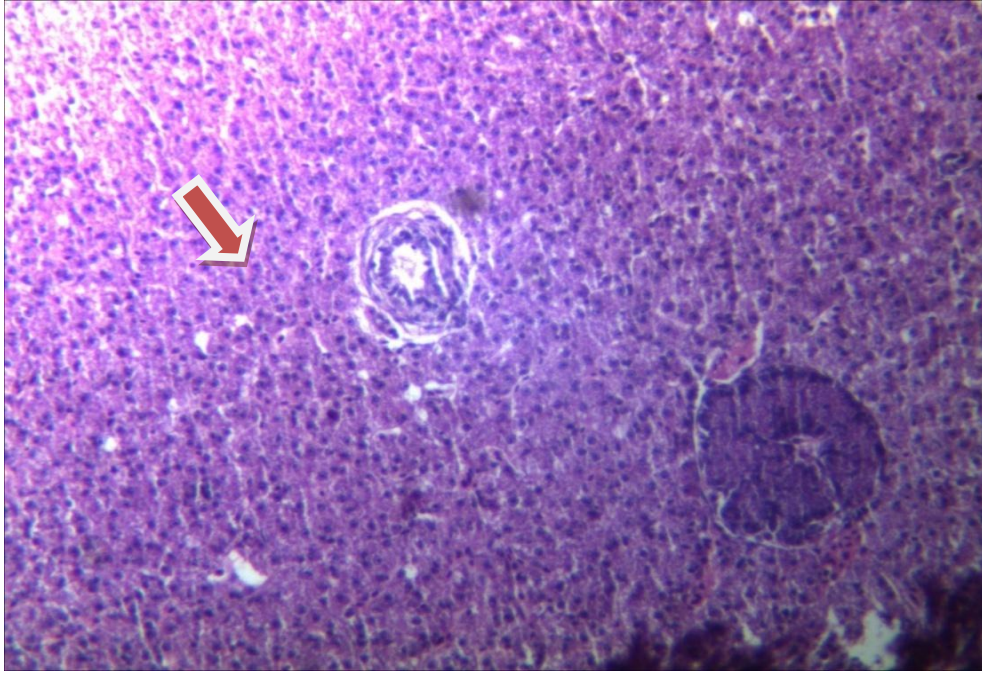
Deney sonunda sazanların karaciğer dokularının tamamında pasif hiperemi (%100), %33'ünde albumin dejenerasyonu, %66'sında hidropik dejenerasyon saptanmıştır.



Resim 4.6. Sazan balıklarında kontrol grubuna ait karaciğer kesiti (ok) (H& E, $\times 100$)



Resim 4.7. Sazan balıklarında hidropik dejenerasyon pasif hiperemi (ok) (H&E, $\times 100$)



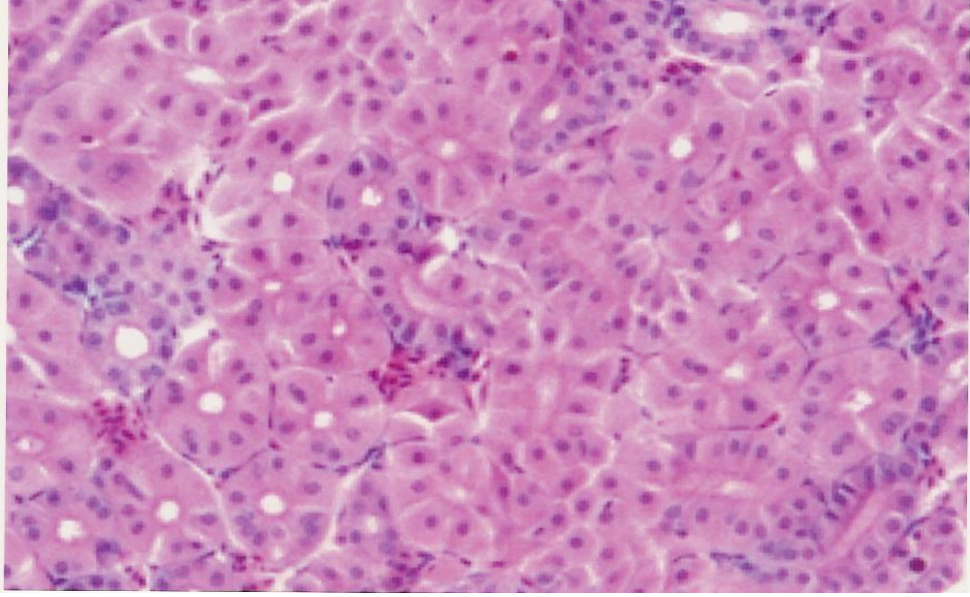
Resim 4.8. Sazan balıklarında karaciğerde albumin dejenerasyonu (ok) (H& E, $\times 100$)

4.3.3. Böbrek dokusuna ilişkin bulgular

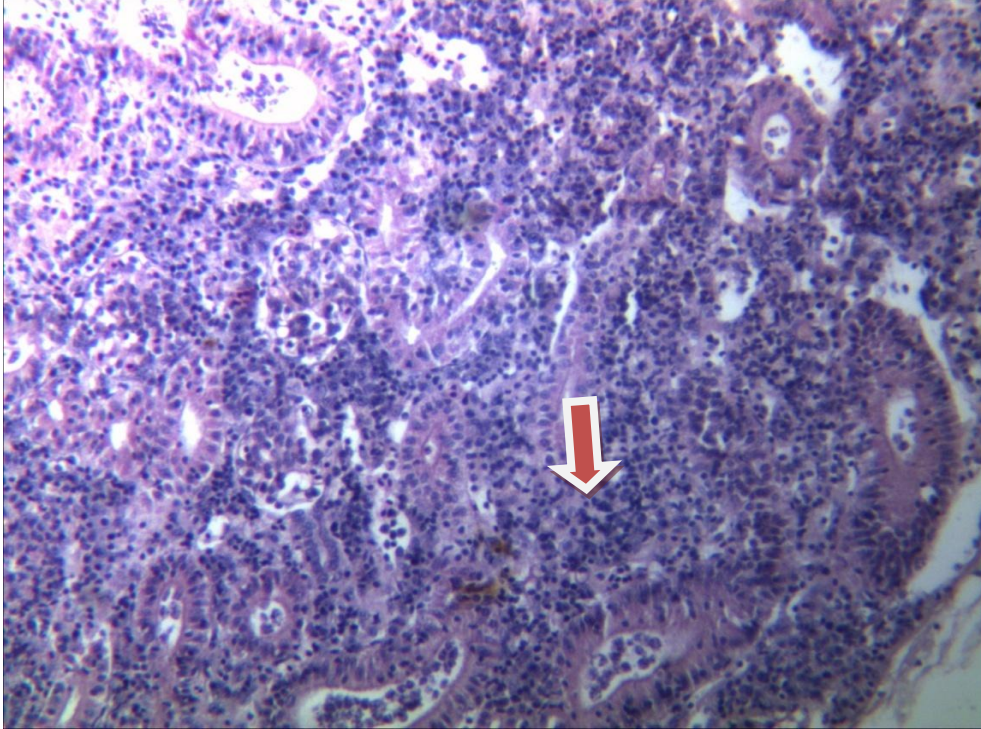
Çizelge 4.5. Subletal konsantrasyonda propoxura maruz kalan sazanların böbrek dokularında görülen histopatolojik bulgular

Böbrek dokusu	İncelenen balık sayısı	Görülen balık sayısı
Kanama	6	6 (%100)
Glomerulusta yıkım	6	3 (%50)
Pre-nefritis	6	2 (%33)
Ödem	6	2 (%33)
Tubul içinde yangı-deskuamasyon	6	2 (%33)

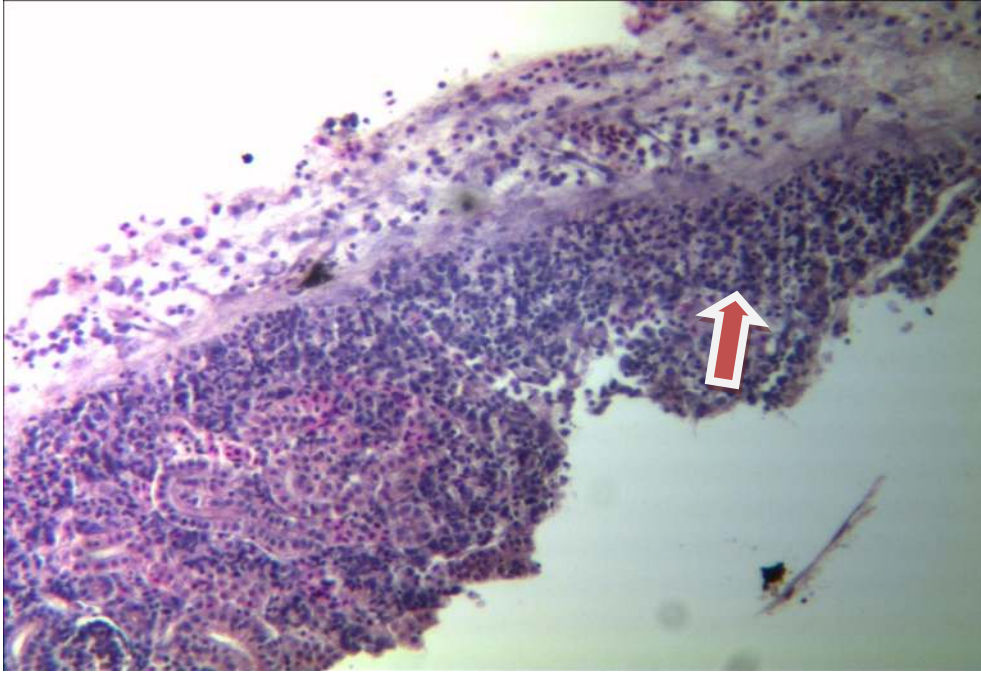
Çizelgede görüldüğü üzere deney sonunda sazanların böbrek dokularının tamamında kanama (%100), %50'sinde glomerulusta yıkım, %33'ünde pre-nefritis, %33'ünde ödem, %33'ünde de tubul içinde yangı-deskuamasyon saptanmıştır.



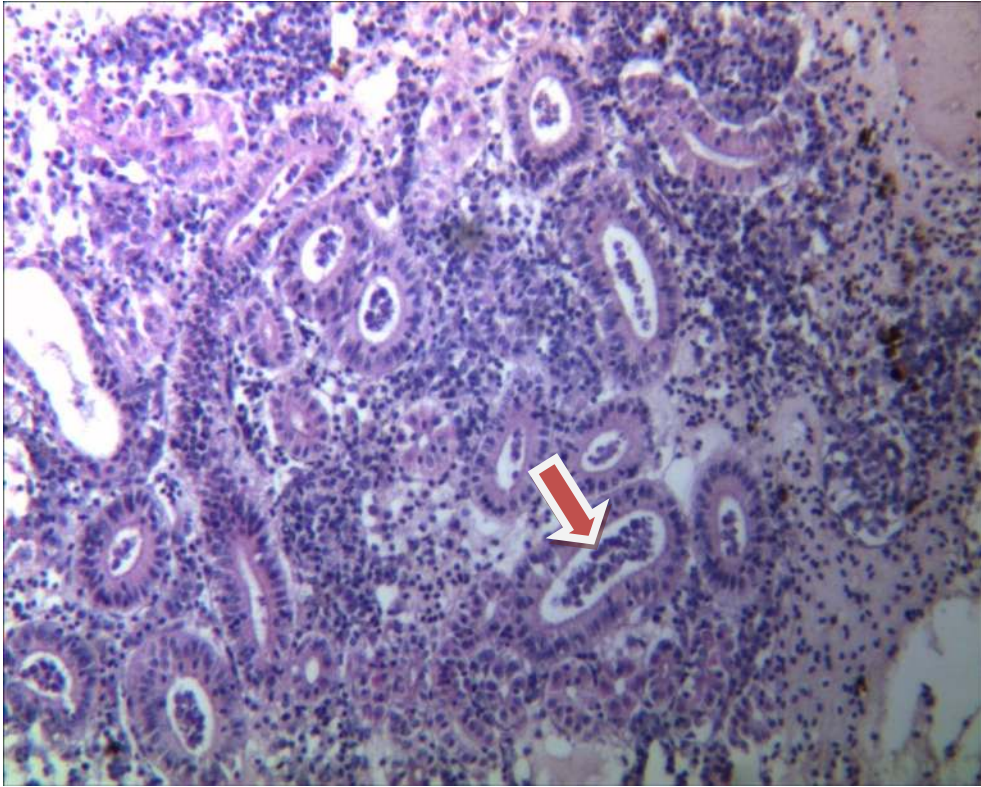
Resim 4.9. Sazan balıklarında kontrol grubuna ait böbrek kesitleri (H& E, $\times 100$)



Resim 4.10. Sazan balıklarında glomerulusta yıkım (ok) (H& E, $\times 100$)



Resim 4.11. Sazan balıklarında pre-nefritis (ok) (H& E, $\times 100$)



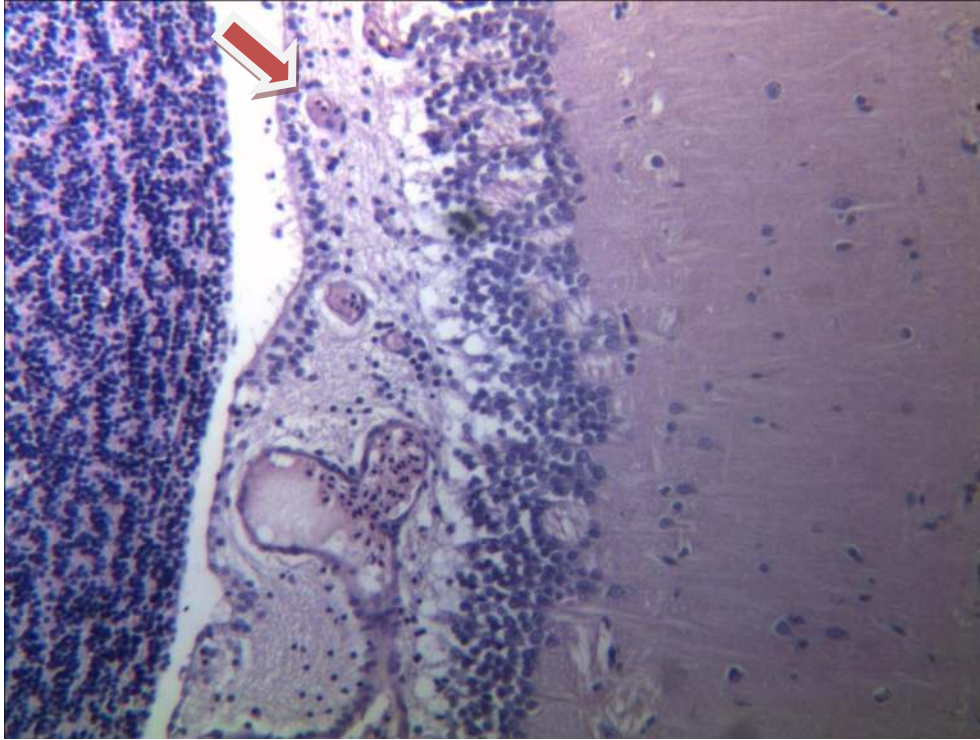
Resim 4.12. Böbrekte tubul içinde yangı deskuamasyon (H& E, $\times 100$)

4.3.4. Beyin dokusuna ilişkin bulgular

Çizelge 4.6. Subletal konsantrasyonda propoxura maruz kalan sazanların beyin dokularında görülen histopatolojik bulgular

Beyin dokusu	İncelenen balık sayısı	Görülen balık sayısı
Hiperemi	6	6 (%100)
Glial proliferasyon	6	2 (%33)
Kromatoliz	6	1 (%16)

Deney sonunda sazanların beyin dokularının tamamında hiperemi (%100), %33’ünde glial proliferasyon, %16’sında kromatoliz saptanmıştır.



Resim 4.13. Sazan balıklarında beyinde hiperemi(ok) (H& E, ×100)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. Kan Parametrelerine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi

5.1.1. Hematolojik parametrelerin değerlendirilmesi

Teknik propoxura (5 mg/L) 96 saat boyunca statik deney sisteminde maruz kalan sazan fingerlinglerinin kontrol ve deney grubunun hematokrit değerleri (% Hct) arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Kan hücresi sayımlarında eritrosit ($P = 0,005$) ve lökosit ($P = 0,022$) değerleri artmıştır.

Yapılan literatür taramasında propoxurun sazan balığı kan parametrelerine etkisine ilişkin herhangi bir bulguya rastlanmamıştır. Mikula ve diğerleri [25], 28 gün benzer pestisit olan LASSO MTX'e maruz kalan sazan yavrularının hematokrit hariç diğer bütün hematolojik ve eritrosit parametrelerinde önemli derecede azalma bulmuşlar; lökositlere etki tespit etmemişlerdir. Sepici-Dinçel ve diğerleri [32], fenitrothion'un subletal dozlarına maruz kalan sazan fingerlinglerinde, hematokrit ve eritrosit sayısında azalma, lökosit ve trombosit sayısının da değişmediğini gözlemlemişlerdir. Velisek ve diğerleri [36], metribuzine maruz kalan sazan balıklarında eritrosit sayısının kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Atamanalp [35], cypermethrinin subletal dozlarına maruz kalan gökkuşağı alabalıklarında eritrosit, trombosit sayısında kontrole göre artış toplam lökosit sayısı ve hematokrit değerinde ise azalma belirlemiştir. Chindah ve diğerleri [27] tarafından yapılan bir araştırmada *Tilapia guineensis* juvenilleri organofosforlu bir pestisit olan chloropyrifos'un subletal dozlarına maruz bırakıldıklarında eritrosit ve lökosit sayılarında anlamlı bir azalma tespit edilmiştir.

5.1.2. Biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesi

Sazan fingerlinglerinin plazmasında yapılan biyokimyasal analizlerde kontrol grubuna göre deney grubunda plazma total proteininde, klor ve AST'de artış ($P < 0.01$); sodyumda artış ($P < 0.05$) bulunmuştur. Diğer biyokimyasal

parametrelerde farklılıklar istatistiksel bakımdan anlamlı görülmemiştir. Balıklarda sekonder stres parametresi olan glukoz değerlerinde anlamlı bir değişiklik olmamıştır. Das ve diğerleri [34], sentetik piretroitlerden olan cypermethrinin subletal dozlarının *Labea rohita* fingerlinglerinde biyokimyasal parametreler üzerinde etkisini incelemişler ve protein seviyesinde azalma, kan glukoz düzeyinde artış gözlemlemişlerdir. Velisek ve diğerleri [36], metribuzine maruz kalan sazan balıklarında amonyak düzeyi, aspartat aminotranferaz, laktat dehidrojenaz ve keratin kinazın yükseldiğini kreatin seviyesinin ise anlamlı düzeyde düştüğünü tespit etmişlerdir. Sepici-Dinçel ve diğerleri [32], fenitrothionun subletal dozlarına maruz kalan sazan fingerlinglerinde plazma kortizol ve glukoz düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığını sodyum, potasyum, fosfor, beyin MDA ve FOX düzeylerinin ise kontrole göre azaldığını tespit etmişlerdir. Atamanalp [35], cypermethrinin subletal dozlarına maruz kalan gökkuşağı alabalıklarında kolesterol'ün yükseldiği, kalsiyum ve fosforun düştüğü, glukoz, total protein ve sodyum değerlerinin farklı dozlarda farklı tepkiler gösterdiğini bildirmiştir.

5.1.3. Histolojik parametrelerin değerlendirilmesi

Propoxurun subletal dozuna maruz kalan sazan balığı fingerlinlerinin dalak, kas ve deri dokularında histopatolojik bulguya rastlanmazken solungaç, böbrek, karaciğer ve beyin dokularında histopatolojik bulgular saptanmıştır.

Balık solungaçlarında epitel, klorit ve mukus gibi farklı hücrelerde hiperplazi ve telangiektazi bir çok toksik maddeye maruz kalma sonucu gözlenen histopatolojik bulgulardır [54].

Deney grubu balıkların solungaçlarında hiperemi, telangiektazi, sekonder lamellalarda füzyon, hiperplazi, branchitis, epitel kalkması, epitelde deskuamasyon kaydedilmiştir.

Propoxurun subletal dozuna maruz kalan deney grubu balıkların böbreklerinde kanama, glomerlusta yıkım, pre-nefritis, ödem, tubul içinde yangı-deskuamasyon tespit edilmiştir.

Böbrekler bilindiği gibi balıklarda, boşaltım ve osmoregülasyonda önemli rol oynarlar. Bir toksik maddeye sub kronik ve subletal maruz kalmada böbrek ilk hedef organdır ve etki solungaç ile karaciğerden daha ciddi oluşmaktadır [55].

Deney grubu balıklarının karaciğer dokularında pasif hiperemi, albumin dejenerasyonu, hidropik dejenerasyon saptanmıştır.

Beyin dokularında hiperemi, glial poliferasyon, kramatoliz tespit edilmiştir.

Mikula ve diğerleri [25], benzer bir pestisit olan LASSO MTX'e 28 gün maruz bırakılan sazan yavrularının dokularında histopatolojik olarak kontrol grubuna göre az farklılık bulmuşlardır. En fazla doku hasarı solungaç ve karaciğerde bildirilmiştir. Sepici-Dinçel ve diğerleri [32], *Cyprinus carpio* fingerlinglerinin organofosforlu insektisitlerden olan fenitrothion'un subletal dozlarına maruz bırakıldığında solungaç, karaciğer, böbrekler, dalak, gonadlar, kas ve deride anlamlı histolojik değişimler gözlemlemişlerdir. Atamanalp [35], cypermethrinin gökkuşağı alabalığı üzerindeki etkilerini gözlemlediği çalışmada histopatolojik incelemeler sonucunda; cypermethrinin toksik etkisi ile, karaciğerde hepatositlerde hidrofik dejenerasyon, yağlanma, hemoraji ve hücresel nekroz, böbreklerde hücresel dilatasyon, glomerüllerde hücresel poliferasyon ve nekroz tipi septomlar tespit edilmiştir. Yıldırım ve diğerleri [26], tarafından yapılan bir çalışmada deltametrinin subletal dozlarına maruz kalan tatlı su balığı *Oreochromis niloticus* fingerlinglerinde solungaçlarda hiperemi, sekonder lamellerde füzyon ve telangiektazi, karaciğerde hidropik dejenerasyon tespit edilmiştir.

Sonuç olarak;

Araştırmadan elde edilen bulgular sonucunda propoxurun LC₅₀ değerinin yarısında bile kanda önemli hematolojik ve biyokimyasal değişimlere yol açtığı, dokularda

patolojilere neden olduğu ortaya konulmuştur. Bu değişimlerden bazıları istatistiki olarak önemli bulunurken bazıları önemsiz bulunmuştur.

Bu araştırma sonucunda elde edilen bulgular ile propoxurun subletal dozunun yarısında bile balıkların dolaşım sisteminde bozukluklara yol açtığı tespit edilmiştir. Araştırmadan elde edilen bulgular propoxurun LC₅₀ değerinin yarısında bile sazan fingerlinglerine çok toksik olduğunu göstermektedir.

Bu araştırma sonucunda elde edilen bulgular ile benzer araştırmalar sonucu elde edilen bulgular sucul ekosistem kirliliğinde pestisitlerin önemli rol oynadığını göstermektedir. Akuatik ortamlardaki toksik madde kirliliğinin önüne geçilebilmesi için alınması gereken tedbirlerden biri de pestisit kullanımına getirilecek kısıtlamalar ve zararlılarla mücadelede kimyasal yöntemler yerine biyolojik mücadele yöntemlerinin yaygınlaştırılmasıdır.

KAYNAKLAR

1. Öztürk, İ., Tosun, N., "Famoxadone ve Cymoxanil etkili maddeli bir fungusitin domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) bitkisi üzerine fizyolojik etkisi " **Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.** 41: 77-87(2004).
2. Kaya, H., "Atıkhisar Barajı ve Sarıçay'da Pestisit ve Eysel Kirliliğin Araştırılması", Yüksek Lisans Tezi, **Çanakkale Onsekizmart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Çanakkale, 2-3 (2007).
3. Gedikli, S., "Kayseri İli İçme Sularında Organoklorlu Pestisit Kalıntılarının Belirlenmesi ," **Erciyes Üniversitesi**, Yüksek Lisans Tezi, 58 (2001).
4. Lloyd, R., Pollution and Freshwater . A Buckland Foundation Book, **Fishing News Books**, Cornwall, 176 (1992).
5. Stainer, D.Y.R., Fishman, M.C., "The zebra fish as a model system to study cardiovascular development". **Trends Cardiovasc Med** 4: 207-212 (1994).
6. Tuncer, E., "Tarımsal İlaçların Çevre Kirliliği Üzerine Etkileri ve Alınması Gereken Önlemler." **T.C. Tarım Bakanlığı Zir. Müc. ve Kar. Gen. Müd. Basılmamış Seminer Notları, Sivas**, 5 (1987).
7. Toros, S. ve Maden, S. **Tarımsal Savaşın Yöntem ve İlaçları. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları**, No: 1222 Ders Kitabı, Ankara, 352 (1991).
8. Al-Sabti, K. Monitoring The Genotoxicity of Radiocontaminants in Swedish Lakes By Fish Micronuclei. **Cytobios** 70: 101-106 (1992).
9. Altay, O., "İzmir Körfezinde Pesitisit Kirliliğinin Araştırılması Doktora Tezi", **Dokuz Eylül Üniversitesi, Deniz Bilimleri Enstitüsü**, 85 (1997).
10. Verep, B., Kaplan, F., Yörük , Y., Turan, D., "Karbaril'in Tatlısu Kefali (*Leuciscus cephalus*) Üzerine Akut Toksik Etkisi"., **Türk Sucul Yaşam Dergisi** 3: 341-345 (2005).
11. Willims, D., and Felmate B.W., " Aquatic İnsects", T C. A. B. **İnternational, Redwood Press**, Melksham, 358 (1992).
12. Al-Sabti, K., Metcalfe, C.D., " Fish Micronuclei for Assesing Genotoxicity in Water". **Mutat Res.**, 343: 121-135 (1995).
13. Bernet, D., Schmidt, H., Meier, W., Burkhardt-Holm, P., and Wahli, T., "Histopathology in fish: proposal for a protocol to ases aquatic pollution". **J. Fish Dis.**, 22, 25-33 (1999).
14. Svobodova, Z., Vykusova, B., and Machova, J., " The effects of pollutants on selected haematological and biochemical parameters in fish". **Müller R. and Lloyd R.** (Eds), FAO, USA, 39-52 (1994).

15. Wester, P.W., Van der ven, L.T.M., Vethaak, A, D, Grinwis G.C.M and Vos, J.G. "Aquatic toxicology: opportunities for enhancement through histopathology". *Environ. Toxicol. Pharm*, 11, 289-295 (2002).
16. Wester, P.W., Van der ven, L.T.M., and vas, J. G., "Comparative toxicological pathology in mammals and fish: some examples with endocrine disrupters". *Toxicology*, 205, 27-32 (2004).
17. Kuhr, R. J. And Dorough, H. W., Carbamate insecticides: Chemistry, biochemistry, and toxicology., *CRC Press, Inc.*, Florida, 1171 (1976).
18. Adham, K.G., Ibrahim, H. M., Hamed, S.S. and Ramadan, A. S., "Blood chemistry of *Nile tilapia*, *Oreochromis niloticus* under the impact of water pollution". *Aquatic Ecology*, 36, 549-557 (2002).
19. Wedemeyer, G. A., Barton, B.A., and Mcleay, D.J., "Stress and climation. In Methods for fish biology schreak" **C. B. And Moyle P.B.**, USA, 451-490 (1990).
20. Smith, S. L., "Introduction to fish pysiology". *Argent Lab. Redmond*, USA, 352 (1991).
21. Tripathi, N. K., Latimer, K. M., Lewis, T.L. and Burnley, V. V., "Biochemical reference intervals for koi (*Cyprinus carpio*)". *Comp. Clin. Path.*, 12, 160-165 (2003).
22. Stoskopf, M. K. 1993. "Fish Medicine". **W. B. Saunderscomp.**, Philadelphia. 882 (1993).
23. Seth, V., Banerjee, B. D., Chakravorty, A. K., "Lipid peroxidation, free radical scavenging enzymes, and glutathione redox system in blood of rats exposed to propoxur", *Pestic. Biochem. Physiol.*, 71, 133-139 (2001).
24. Padilla, S., Marshall, R. S., Hunter, D. L., Lowit, A., Time course of cholinesterase inhibition in adult rats treated acutely with carbaryl, carbofuran, formetanate, methomyl, methiocarb, oxamyl or propoxur, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 219, 202-209 (2007).
25. Mikula, P., Modra, H., Nemethova, D., Groch, L., Svobodova Z., " Effects of subtronic exposure to LASSO MTX® (Alachlor 42% w/v) on hematological indices and histology of the common carp, *Cyprinus carpio* L.," *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 81, 475-479 (2008).
26. Yıldırım, M. Z., Karasu Benli, A.Ç., Selvi, M., Özkul, A., Erkoç, F., Koçak, O., "Acute toxicity, behavioral changes and histopathological effects of deltamethrin on tissues (gills, liver, brain, spleen, kidney, muscle, skin) of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fingerlings", *Environ. Toxicol.*, 21, 614-620 (2006).

27. Chindah, A. C., Sikoki, F. D., Vincent-Akpu, I., "Toxicity of an organophosphate pesticide (chlorpyrifos) on a common Niger Delta wetland fish-*Tilapia guinneensis* (Blecker 1862)", **J. Appl. Sci. Environ. Mgt.** 8(2), 11-17 (2004).
28. Agrahari, S., Pandey, K. C., Gopal K., "Effects of monocrotophos on erythropoietic activity and hematological parameters of the freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch)", **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, 76, 607-61 (2006).
29. Bhavan, P.S., Geraldine, P., "Histopathology of the Hepatopancreas and Gills of the Prawn *Macrobrachium malcolmosonii* Exposed to Endosulfan", **Aquat. Toxicol.** 50, 331-339 (2000).
30. Jenkins, F., Smith, J., Rajanna, B., Shameem, U., Umadevi, K., Sandhya, V., Madhavi, R., "Effect of sub-lethal concentrations of endosulfan on hematological and serum biochemical parameters in the carp *Cyprinus carpio*", **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, 70, 993-997 (2003).
31. Reddy, P.M., and Philip, G.H., "Hepato toxicity of malathion on the protein metabolism of *Cyprinus carpio*". **Acta. Hydrochim. Hydrobiol.**, 19, 1, 127-130 (1991).
32. Sepici-Dinçel, A., Sarıkaya, R., Selvi, M., Şahin, D., Karasu Benli, Ç., Atalay-Vural, S., "How sub-lethal fenitrothion is toxic in carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings", **Toxicol. Mech. Met.**, 17, 489-495 (2007).
33. Sepici-Dinçel, A., Karasu Benli, A. Ç., Selvi, M., Sarıkaya, R., Şahin, D., Özkul, İ. A., Erkoç F., "Sublethal cyfluthrin toxicity to carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings: Biochemical, hematological, histopathological alterations", **Ecotox. Environ. Saf.**, 72, 1433-1439 (2009).
34. Das, B.K. and Mukherjee, S.C., "Toxicity of Cypermethrin in *Labeo rohita* Fingerlings: Biochemical, Enzymatic and Haematological Consequences". **Comp. Biochem. Physiol.** C 134, 109-121 (2003).
35. Atamanalp, M., "Bir Sentetik Piretroit İnsektisitini (Cypermethrin) Sublethal Dozlarının Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'na Makroskopik, Histopatolojik, Hematolojik ve Biyokimyasal Etkileri", Doktora Tezi, **Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Erzurum, 53-81 (2000).
36. Velisek, J., Svobodova, Z., Piackova, V., Sudova, E., "Effects of acute exposure to metribuzin on some hemotological, biochemical and histopathological parameters of common carp (*Cyprinus carpio* L.)", **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, 82, 492-495 (2009).
37. Lakota, S., Raszka, A., Kupczak., "Toxic effect of cartap, carbaryl, and propoxur on some aquatic organisms", **Acta Hydrobiol.**, 23(2): 183-190 (1981).

38. Srivastava, A.K. and Singh N.N., "Acute toxicity of propoxur on carbohydrate metabolism of Indian Catfish (*Heteropneustes fossilis*)", ***Toxicology Letters*** (11): 31-34 (1982).
39. Hanson, R., Dodoo, D. K., Essumang, D. K., Blay, J. Jr., Yankson K., "The effect of some selected pesticides on the growth and reproduction of fresh water *Oreochromis niloticus*, *Chrysichthys nigrodigitatus* and *Clarias gariepinus*", ***Bull. Environ. Contam. Toxicol.***, 79, 544-547 (2007).
40. Wang, C., Lu, G., Cui, J., Wang, P., "Sublethal effects of pesticide mixtures on selected biomarkers of *Carassius auratus*", ***Environ. Toxicol. Pharmacol.***, 72, 414-419 (2009).
41. Maran, E., Fernandez, M., Barbieri, P., Font, Ruiz, M.J., "Effects of four carbamate compounds on antioxidant parameters". ***Ecotox. Environ. Saf.***, 72 922-930 (2009).
42. Gül, A., Investigation of acute toxicity of chlorpyrifos-methyl on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) larvae, ***Chemosphere***, 59(2), 163-166 (2005).
43. Anonymous. " Standart methods for the examination of water and wastewater". 14th edition Washington, ***APHA***, USA, 1134 (1975).
44. Reish, D.L. and Oshida, P.S., "Manuel of methods in aquatic environment Research". Part 10. Short-Term Static Bioassays. ***FAO Fish Tech.Pap.*** 247, 17-33 (1987).
45. Wedemeyer, G.A., Barton, B.A., and Mcleay, D.J., Stress and acclimation. In methods for fish biology ***Shreck C. B and Moyle P.B. (Eds.)***, Bethesda, Maryland, USA, 451-490 (1990).
46. Smith, S.L., Introductionnto fish physiology. ***Argent Lab. Redmond***, USA, 352 (1991).
47. Fivelstad, S., Schwarz, J., Stromsnes, H. and Olsen, A. B., Sublethal effects and safe levels of ammonia in seawater for Atlantic Salmon Postsmolts (*Salmo salar* L.) ***Aquacult. Eng.***, 14: 271-280 (1995).
48. Hrubec, T. C Robertson, J. L. and Smith, S. A., "Effects of ammonia and nitrate concentrations on hematologic and serum biochemical profiles of hybrid striped bass *Morone chrysops* *Morone saxatilis*". ***Am.J Vet.Res.*** 58 (2) 131-135 (1997).
49. Elçin, A. E., Erkoç, F., Atik, A.D., Selvi, M., Sarıkaya, R., Öztekin, M.N., Biyoloji Laboratuvarının Temelleri. Editörler A. E. Elçin ve F. Erkoç. ***Palme Yayıncılık***, Ankara, 42-54 (2010).

50. Elçin, A. E., Erkoç, F., Sarıkaya R., Selvi, M., Atik, A.D., Öztekin, M. Molekül den Hücreye Dokudan Fizyolojiye Biyoloji Deneyleri. Editörler A.E. Elçin ve F. Erkoç. **Palme Yayıncılık**, Ankara, 38-62 (2010).
51. Svobodovo, Z. Vykusova, B. and Machova, J., The effect of pollutants on selected haematological and biochemical parameters in fish. Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish. **Müller R. and Lloyd R.** (Eds.), FAO, USA, 4: 39-52 (1994).
52. Roberts, R.J. Fish Pathology. 3rd edition. **WB Saunders**, London, 467 (2001).
53. Luna, L. G., "Manual of histological staining methods of the armed forces Institute of Pathology". Third Edition. **McGraw-Hill Book Company**. USA, 258 (1968).
54. Mallat, J., "Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: A Statistical Review". **Can. J. Fish. Aquat. Sci.**, 42: 630-648 (1985).
55. Metcalfe, C.D., "Toxicopathic responses to organic compounds". In Fish diseases and disorders" Vol 2, Non-infectious disorders. Leatherland, J.F. and Woo, P.T. K. (Eds.) **CABI publishing**. Wallingford. UK, 386 (1998) .

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : AYHAN, Ayşen
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 08/12/1976 İZMİR
Medeni hali : Bekar
e-mail : a.aysenayhan@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	Gazi Üniversitesi/ Biyoloji Öğretmenliği	1997
Lise	Gölcük Barbaros Hayrettin Lisesi	1993

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
1998_2010	Milli Eğitim Bakanlığı	Biyoloji Öğretmeni

Yabancı Dil

İngilizce

Hobiler

Sinema, edebiyat, alışveriş