

**SENTETİK PİRETROİT DELTAMETRİN'İN *Pseudorasbora parva*
(Temminck & Schlegel, 1846) ÜZERİNDEKİ AKUT VE GENOTOKSİK
ETKİLERİ**

Sezin DÜZEL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE BİLİMLERİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ARALIK 2013
ANKARA**

**SENTETİK PİRETROİT DELTAMETRİN'İN *Pseudorasbora parva*
(Temminck & Schlegel, 1846) ÜZERİNDEKİ AKUT VE GENOTOKSİK
ETKİLERİ**

Sezin DÜZEL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE BİLİMLERİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ARALIK 2013
ANKARA**

Sezin DÜZEL tarafından hazırlanan “SENTETİK PİRETROİT DELTAMETRİN’İN *Pseudorasbora parva* (Temminck & Schlegel, 1846) ÜZERİNDEKİ AKUT VE GENOTOKSİK ETKİLERİ” adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Ali GÜL

.....

Tez Danışmanı, Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı

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

Prof. Dr. Ahmet ALTINDAĞ

.....

Biyoloji Bölümü Anabilim Dalı, A.Ü.

Prof. Dr. Ali GÜL

.....

Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı, G.Ü.

Doç. Dr. Aysel Çağlan KARASU BENLİ

.....

Çevre Bilimleri Anabilim Dalı, G.Ü.

Tez Savunma Tarihi: 26/12/2013

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

Prof. Dr. Şeref SAĞIROĞLU

.....

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 bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Sezin DÜZEL

**SENTETİK PİRETROİT DELTAMETRİN’İN *Pseudorasbora parva*
(Temminck & Schlegel, 1846) ÜZERİNDEKİ AKUT VE GENOTOKSİK
ETKİLERİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Sezin DÜZEL

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Aralık 2013**

ÖZET

Bu çalışmada, tarımsal faaliyetler sonucu sucul ekosisteme toksik kirletici olarak bulaşan sentetik piretroit grubu deltametrin pestisitinin çizgili sazancıklar (*Pseudorasbora parva*) üzerindeki 96 saatlik LC₅₀ değerleri saptanmıştır. Deltametrinin genotoksik etkisinin belirlenmesinde eritrositlerdeki nükleus değişimleri gözlenmiştir. Uygulamalarda statik akut deney yöntemi ve genotoksik etkinin belirlenmesinde mikronükleus testi kullanılmıştır. Sonuçlar SPSS 16 paket programı ile değerlendirilmiştir. Ayrıca deney süresince deltametrinin *Pseudorasbora parva* bireylerindeki davranış değişiklikleri tespit edilmiştir. Deney sonucunda elde edilen bulgular Probit Analiz Yöntemi ile değerlendirilmiş ve 96 saat sonunda LC₅₀ değeri 685,506 µg/L olarak saptanmıştır. Mikronükleus testi sonucunda kontrol grubunda ortalama MN frekansı %0,75 ve deney grubunda %11,1 olarak tespit edilmiştir. Deney grubu ile kontrol gruplarının MN frekansları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu maddenin çok toksik olduğu ve tarımsal uygulamalarda gerekli önlemlerin alınması gerektiği önerilmektedir.

Bilim Kodu : 903.5.075
Anahtar Kelimeler : Deltametrin, *Pseudorasbora parva*, akut toksisite, LC₅₀, mikronükleus
Sayfa Adedi : 45
Tez Yöneticisi : Prof. Dr. Ali GÜL

**ACUTE AND GENOTOXICAL EFFECT OF SYNTHETIC PYRETHROID
DELTAMETHRIN ON *Pseudorasbora parva* (Temminck & Schlegel, 1846)**

(M.Sc. Thesis)

Sezin DÜZEL

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

December 2013

ABSTRACT

In this study, the 96 h LC₅₀ values were determined on *Pseudorasbora parva* of synthetic pyrethroid deltamethrin, toxic contaminant on aquatic ecosystems. The genotoxi effects of deltamethrin was determined by the nucleus abnormalitives of the erythrocytes. The study was carried out by using static acute test and micronucleus test were used for the determination of the genotoxic effects. Also the behavioral changes of *Pseudorasbora parva* individuals induced by deltametrin throughout the study were monitored. The data were evaluated by the use of Probit Analysis and the 96-h LC₅₀ value was found to be 685.506 µg/L. The MN frequency for the control and the experimental group after the micronucleus test were found to be 0.75 ‰ and 11.1 ‰ respectively. The difference between the MN frequencies of the experimental and control group was found to be statistically significant. It is recommended that the necessary measured should be taken before the agricultural use of this very toxic compound in order to prevent the contamination of the aquatic ecosystems.

Science Code	: 903.5.075
Keyword	: Deltametrin, <i>Pseudorasbora parva</i> , acute toxicity, LC ₅₀ , micronucleus
Number of pages	: 45
Supervisor	: Prof. Dr. Ali GÜL

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans öğrenimim boyunca engin bilgi ve tecrübeleriyle beni her konuda yönlendiren ve destekleyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ali GÜL'e, çalışmalarım boyunca her türlü yardım ve desteklerini esirgemeyen değerleri hocalarım Prof. Dr. Figen ERKOÇ ve Doç. Dr. Aysel Çağlan KARASU BENLİ'ye, balıkların temini konusunda yardımcı olan Dr. Oner KOÇAK'a (Hacettepe Üniversitesi) ve maddi manevi her konuda yanımda olan değerli aileme teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Sucul Ortamlarda Pestisitler	4
2.2. Pestisitlerin Akut Toksik Etkisi.....	5
2.3. Pestisitlerin Genotoksik Etkileri.....	6
2.3.1.Mikronükleus testi.....	8
2.4. Sentetik Piretroit	10
2.5. Deltametrin	13
2.6. <i>Pseudorasbora parva</i>	14
2.7. Deltametrinin Balıklar Üzerindeki Akut Toksisite ve Genotoksitesisiyle İlgili Yapılan Çalışmalar	15
3. MATERYAL VE METOD	19
3.1. Materyal.....	19
3.1.1. Deney yeri	19

	Sayfa
3.1.2. Balık materyali	19
3.1.3. Pestisit materyali	19
3.1.4. Akvaryumlar ve su kalitesi.....	20
3.2. Metod.....	20
3.2.1. Akut toksisite deneyi.....	20
3.2.2. Mikronükleus testi.....	21
4. BULGULAR.....	23
4.1. Akut Toksisite Deney Sonuçları.....	23
4.1.1. Balıklarda görülen davranış değişiklikleri ve makroskopik bulgular ..	26
4.2. Mikronükleus Sonuçları	27
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	31
6. ÖNERİLER	36
KAYNAKLAR	37
ÖZGEÇMİŞ	45

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Sucul ortamda yaşayan canlılar üzerindeki LC ₅₀ 'ye göre akut toksisite dereceleri.....	6
Çizelge 2.2. Sentetik organik pestisitlerin etki mekanizmaları.....	12
Çizelge 3.1. Deneylerde kullanılan su kalite parametre değerleri	20
Çizelge 4.1. <i>P. parva</i> 'nın ölüm oranı ve deltametrin konsantrasyonu arasındaki ilişki.....	23
Çizelge 4.2. Deltametrinin <i>P. parva</i> bireylerindeki 96 saatlik akut toksisitesi.....	24
Çizelge 4.3. <i>P. parva</i> bireylerinin eritrositlerindeki ortalama mikronükleus frekansları.....	27
Çizelge 4.4. Deney grupları arasındaki farkın istatistiksel açıdan değerlendirilmesi.....	28
Çizelge 5.1. Deltametrin farklı balık türleri üzerindeki LC ₅₀ değerleri	32

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekiller	Sayfa
Şekil 2.1. Mikronükleus taşıyan bir hücrenin oluşum aşamaları	9
Şekil 2.2. Deltametrin'in kimyasal formülü.....	13
Şekil 3.1. Periferel eritrositlerde mikronükleus ve morfolojik nükleus düzensizlikleri.....	22
Şekil 4.1. <i>P. parva</i> bireylerinde 96 saatlik deltametrin için hesaplanan probit değerleri ve regresyon grafiğı.....	25
Şekil 4.2. Gruplar arasındaki ortalama mikronükleus frekansları.....	27

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Deney ortamı.....	19
Resim 4.1. Deney sonucu ölen bireyler	26
Resim 4.2. <i>P. parva</i> eritrositlerinde binukleus oluşumu.....	29
Resim 4.3. <i>P. parva</i> eritrositlerinde mikronükleus oluşumu	29
Resim 4.4. <i>P. parva</i> eritrositlerinde çentikli nükleus oluşumu.....	29
Resim 4.5. <i>P. parva</i> eritrositlerinde tomurcuklu nükleus oluşumu	30
Resim 4.6. <i>P. parva</i> eritrositlerinde mikronükleus oluşumu	30
Resim 4.7. <i>P. parva</i> eritrositlerinde mikronükleus oluşumu	30

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler Açıklama

cm	Santimetre
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
mg	Miligram
mL	Mililitre
ppm	Milyonda bir kısım (w/v)

Kısaltmalar Açıklamalar

APHA	American Public Health Association
EPA	Environmental Protection Agency
FAO	Food and Agriculture Organization
TSE	Türk Standartları Enstitüsü
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
ISO	International Organization for Standardization
DDT	Dichlorodiphenyltrichloroethane
LC₅₀	Deney hayvanlarının yarısını öldüren konsantrasyon
LD₅₀	Deney hayvanlarının yarısını öldüren doz

1. GİRİŞ

Günümüzde tarımda birim alandan daha fazla ürün almak ve çeşitli zararlılarla mücadele etmek amacıyla pestisitlerin kullanımı gün geçtikçe artmaktadır [1]. Yoğun ve bilinçsiz bir şekilde kullanılarak çevre kirliliğine neden 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 hedef organizmaların yanı sıra hedef olmayan organizmalar üzerinde de toksik etki yaparlar [3]. Pestisitler çeşitli yollarla su ortamlarına ulaştıklarında içerisindeki balık ve diğer canlılara zarar vermektedirler. Çünkü bu organizmalar sudaki çözünmüş oksijenle beraber pestisitleri de solungaçları ile alırlar [4]. Balıklar, solungaçları vasıtasıyla su ortamından bu kimyasalları absorbe etmek ya da besin olarak tüketmeleri sonucu pestisitle bulaşabilir ya da zehirlenebilirler [1,5].

Organoklorlu, organofosforlu ve karbamatlı pestisitlerin ekolojik çevredeki uzun süreli olumsuz etkilerinin anlaşılması daha az kalıcılığı 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 oldukları çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir [6,7]. Deltametrin sineklerde öldürücü etkisi yüksek olan bir α -siyano piretroidtir. Memelilerde metabolizması ve atılımı hızlı olduğu için zehirliliği oldukça düşüktür. Ancak balıklar ve diğer sucul canlılar için son derece zehirlidir [8,9].

Pseudorasbora parva, doğal yayılış alanı Doğu Asya olan küçük bir Cyprinid türüdür. Bu türün varlığı Türkiye’de 1982 yılında ilk olarak Trakya bölgesinde görülmüş olup, nehir sistemleri ile bugün birçok bölgede görülmektedir. Ekonomik değeri yoktur. Sayıca üstünlüğe ulaştınca diğer balık türleri üzerinde baskı oluşturmalarından dolayı istilacı bir tür olarak adlandırılırlar [10].

Bu çalışmada sentetik piretroit grubu pestisitlerden biri olan deltametrinin akut toksik etkisi araştırılmıştır. Bu bağlamda 96 saatlik LC₅₀ değeri saptanmıştır. LC₅₀ değeri doğrultusunda subletal doz belirlenerek deltametrinin balık eritrositlerindeki nükleus değişiklikleri genotoksisite testlerinde biri olan mikronükleus testi ile tespit edilmiştir. Deneyler esnasında balık davranışları ve kimyasal maddenin bireyler üzerinde yaratacağı klinik işaret gösteren makroskopik bulgularda gözlenmiştir. Çalışmadan elde edilecek sonuçlar doğal sulara karışan bu maddenin hangi konsantrasyonlardan itibaren çizgili sazancıklar (*Pseudorasbora parva*) üzerinde nasıl etki gösterdiğini belirleyerek çevre sağlığı açısından bir ön bilgi oluşmasını ve toksik dozunun belirlenmesi açısından literatüre katkı sağlayacaktır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

1960'lı yıllardan bu yana Dünya nüfusu iki katına çıkarken tarımsal alanların miktarı sabit kalmış bu da aynı miktar alandan daha fazla ürün elde edilmesi gerekliliğini doğurmuş buna bağlı olarak da tarımsal ürünlerde verimin artırılması, kayıpların azaltılması yönünde tarım zararlıları ile mücadele zorunlu hale gelmiştir. İnsanlık tarım zararlıları ile savaşarak besin üretimini arttırma yolları aramış ve bu konuda pestisit adı verilen çeşitli kimyasal maddeler kullanmaya başlamıştır [11]. Pestisitler pest adı verilen zararlılarla mücadelede kullanılan kimyasal ve biyolojik maddeler olarak tanımlanmaktadırlar [12].

Pestisitlerde aranan en önemli özellik zararlı hayvanlara ve böceklerle karşı çok toksik, buna karşılık zararsız böceklerle, memeli hayvanlara ve insanlara karşı zararsız olmalarıdır. Pestisitler, bitkilere olduğu gibi uygulanmazlar. Bunlar zehirli maddeler oldukları için zararlılara karşı daha emniyetli, daha ekonomik, insan ve çevre sağlığı açısından daha az zararlı olacak şekilde bazı yardımcı maddeler ile (katı, sıvı) karıştırılarak kullanılırlar. İşte bu fiziksel karışım formülasyonu içinde belli yüzdede bulunan pestisite de etkili madde veya aktif madde denir [13].

Bu formülasyon içinde:

1. Etkili madde veya aktif madde
2. Yardımcı maddeler
3. Emülgatörler
4. Dolgu maddeleri bulunmaktadır [13].

Pestisitler etki ettikleri zararlılara göre şu şekilde sınıflandırılırlar [14]:

İnsektisit : Böcek öldürücü

Fungusit : Mantar yok edici

Herbisit : Yabancı ot öldürücü

Mollusit : Yumuşakça öldürücü

Bakterisit : Bakteri öldürücü

Nematisit : Nematod öldürücü

Kullanılan pestisitlerin % 47'si herbisit, % 29'u insektisit, % 19'u fungusit ve % 5'i ise diğ erleridir. Pestisitler amaçlanan hedefleri dışında çevreye yayılarak, evre kirliliğine ve doğal hayatın bozulmasına, içilen suda, yenilen meyve ve sebzelerde kalıntılar oluşturarak, insan sağlığına toksik yönde zararlı etkiler göstermektedir. Dünyada her yıl kayıt altına alınabilen 3 milyon akut pestisit zehirlenmesi ve 220.000 ölüm olmakta ve bu ölümlerin % 99'u az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerde görülmektedir [15].

Havadan çok düşük seviyelerde uygulanan pestisitler buradan sulara ve topraklara oradan da bitki ve hayvanlara geçerek besin zincirine ulaşabilmektedir. Sudaki büyük canlıların daha küçükleri yemesi ve kalıntı içeren maddeleri hayvanların yemesiyle bunlarda oluşan birikim, besin zincirinin son halkasında bulunan insanda kalıntı düzeyi çok daha yüksek ve yoğunlaşmiş olarak ortaya çıkar. Doğada görülen bu kalıntının gıda zincirinde ve canlılarda giderek artması olayına biyokonsantrasyon denir [16].

2.1. Sucul Ortamlarda Pestisitler

Pestisitler, sucul ortamları farklı yolları izleyerek kirlitebilirler. Bu yolların başında suda yaşayan canlılara karşı yapılan ilaçlamalar sonucunda kanalizasyon ve lağım sularına karışma veya pestisit imalat artıklarının direkt deşarjı sonucu kirlenme gelmektedir. Pestisitler aynı zamanda yağmur suları, drenaj suları, yüzey akışları ve sulama sularına karışarak da bu suları kirlitebilirler. Ayrıca doğrudan suya yapılan uygulamalar sonucunda pestisitler su bitkileri veya dip çamurları tarafından tutulabilmektedirler [17]. Pestisitlerin su içerisinde hareketliliği temelde suda eriyebilirlik ve formülasyonuna bağlıdır. Suda eriyebilen ya da suda eriyebilecek şekilde formüle edilen pestisitler su içerisinde kısa sürede dağılırlar. Fakat toz veya granül formda bulunanlar su içerisinde askıda kalarak uzun süre aktif maddelerinin yayılmasına neden olurlar. Balıklar solungaçları vasıtasıyla su ortamından bunları absorbe ederek ya da kirlenmiş materyallerin besin olarak tüketimi sonucu pestisite maruz kalabilir ya da zehirlenebilirler [18]. Temel mantık olarak canlı organizmaları öldürmek üzere üretildikleri ve kullanıldıkları için pestisitler sucul hayat için

potansiyel bir tehlike olarak önem taşımaktadırlar [19]. Pestisitlerin balıklara etkileri değişik şekillerde görülür. Direkt olarak öldürme söz konusu olabileceği gibi yumurta bırakmayı ve üremeyi durdurmak suretiyle de balık popülasyonu üzerinde etkili olabilmektedirler. Ayrıca dokularda meydana getirdikleri hasarlar ile balıklarda duyarlılığa yol açarak mevsimlik ısı değişimlerinden ve geçici açlıktan daha yüksek oranda etkilenmelerine yol açabilirler. Yavru balıklar ise hassas oldukları için bu durumdan daha fazla zarar görmektedirler [18].

2.2. Pestisitlerin Akut Toksik Etkisi

Pestisitler, hedef organizmalarda farklı şekillerde etkili olmaktadır. Bu mekanizma çok kompleks olmakla birlikte, hedef organizmadaki toksisite biyokimyasal bir süreç sonucunda ortaya çıkmaktadır. Kimyasal maddeler iki tipte toksik etki oluştururlar [20].

1. Akut toksisite; tek bir dozda alındığında kısa sürede ortaya çıkan ve belirtileriyle tanımlanabilen etki [20].
2. Kronik toksisite; uzun bir süreçte, öldürücü doz altındaki tekrarlı alımlarda ortaya çıkan toksisite [20].

Akut toksisitenin ölçüsü LC_{50} değeridir. Bu değer popülasyonda % 50 oranında ölüm oluşturan konsantrasyon olarak tanımlanabilmektedir. Düşük LC_{50} değeri o bileşiğin toksisitesinin yüksek olduğunu göstermektedir. Pestisitlerin toksisite derecelerine göre de sınıflandırılması yapılmaktadır. Çizelge 2.1’de pestisitlerin toksisite derecelerine göre sınıflandırılması görülmektedir [21].

Çizelge 2.1. Sucul ortamda yaşayan canlılar üzerindeki LC₅₀'ye göre akut toksisite dereceleri [22]

Toksikoloji Derecesi	LC₅₀(µg/L)
Çok Yüksek Toksik	<100
Yüksek Toksik	100 - 1000
Orta Dereceli Toksik	1000 - 10000
Az Toksik	10000 - 100000
Akut Toksik Değil	>100000

Kronik toksisite deneyleri ise akut toksisite deneylerinden elde edilen verilerin ışığı altında subletal konsantrasyonlar ile maksimum mücade edilebilir seviyeleri kapsayan konsantrasyon aralığı ya da doğal ortamda (yüzey sularda) suda kimyasal maddelerin bulunma düzeylerinin organizmada yaratabileceği etkilerin araştırılması amacıyla su kalitesi parametreleri ölçülmesi sonucu elde edilen değerler kullanılarak yapılır [23].

Akuatik ortamda mevcut kirliliğin ve toksik maddenin canlı üzerinde yaptığı etkilerin değerlendirilmesinde çoğunlukla saha ve laboratuvar çalışmaları gerçekleştirilmektedir. Bu bağlamda ya canlının yaşadığı ortam koşullarına benzer koşullar (tam kontrollü) laboratuvar (in vitro) ortamına aktararak biyodeneylemler olarak adlandırılan çalışmalar yapılmaktadır [24] ya da toksik madde varlığının akuatik sistemler üzerinde yarattığı etkilerin araştırılması amacıyla örnek toplanarak incelemektedir (in situ) [25].

2.3. Pestisitlerin Genotoksik Etkileri

İnsektisitlerin ve diğer pestisitlerin, ortamda ve dolayısıyla canlıda birikerek toksik, genotoksik veya kanserojenik etki gösterebildikleri bilinmektedir. Bu etkilerin bazıları organizma veya ekosistem üzerinde hemen görülebildiği halde, bazıları ise uzun bir zaman sürecinden sonra kendilerini gösterirler. Pestisitlerin genel olarak ekosistem içerisinde akut öldürücü etkisi olmadığı, ancak besin zinciri yoluyla organizmadan organizmaya geçerek miktarlarının yükseldiği ve belli düzeylerden sonra da toksik etki yaptığı bilinmektedir [26].

Genetik toksikoloji, temel olarak kalıtım materyali olan DNA üzerinde meydana gelen toksik etkileri inceleyen bilim dalıdır. DNA içerisinde kimyasal olarak kodlanan genetik bilgi, replike edildikten sonra mümkün olduğunca aslına uygun bir biçimde oğul döllere aktarılacak zorundadır. Bu esnada, gerek normal biyolojik süreçler sonucu gerekse DNA'nın doğrudan ya da dolaylı olarak fiziksel, kimyasal ve biyolojik etmenlerle etkileşimi sonucu çeşitli bozulmalar meydana gelebilmektedir. İşte bu şekilde, kalıtım materyali olan DNA üzerinde hasarlara yol açan etmenleri tanımlamak için “genotoksik” terimi kullanılmaktadır [27].

Diğer organizmalar gibi, balık türlerinin de maruz kaldığı farklı konsantrasyonlardaki genotoksik maddelerin DNA üzerinde oluşturabilecekleri hasarlar temel olarak üç farklı sonuca yol açabilir. Oluşan DNA hasarları tamir sistemleri tarafından onarılabileceği gibi, onarılmadan kalan mutasyonlar olarak hücrede varlıklarını sürdürebilirler. Şayet oluşan hasarlar onarılamayacak veya tolere edilemeyecek kadar büyük ise hücre ölümü ile sonuçlanacak bir süreçte doğru girilebilir. Somatik hücrelerde gerçekleşen genetik bozulmalar kanser oluşumlarıyla sonuçlanabilirken germinal hücrelerde meydana gelecek genetik bozulmalar gelecek popülasyonlarda genetik yapının bozulmasına neden olma potansiyeline sahiptirler. Bu durum da genel olarak, popülasyonlarda üremeyeyle ilişkili olarak meydana gelebilecek bozukluklarla sonuçlanabilmektedir [28]. Genetik toksikoloji testlerinde ana hedef DNA molekülü olduğundan dolayı, elde edilen sonuçlar aynı zamanda insan sağlığı ile ilgili olarak ortaya çıkabilecek problemlerin tahmininde de kullanılmaktadır. Bu nedenle bir türde DNA hasarı oluşturduğu bilinen bir kimyasal maddenin, diğer türlerde de benzer etkiler gösterebileceğini söylemek mümkündür. Bugün genotoksik etkilerin incelenmesi amacı ile; mikroorganizmalar, böcekler, bitkiler ve omurgalı hayvanlar üzerinde uygulanabilecek olan 200'den fazla kısa süreli test metodu bulunmaktadır [27]. Bir genotoksikite test yönteminde olması istenen temel özellikleri şöyle sıralayabiliriz;

- Uygulama açısından basit olması.
- Genetik hasarları belirlemede etkin olması.

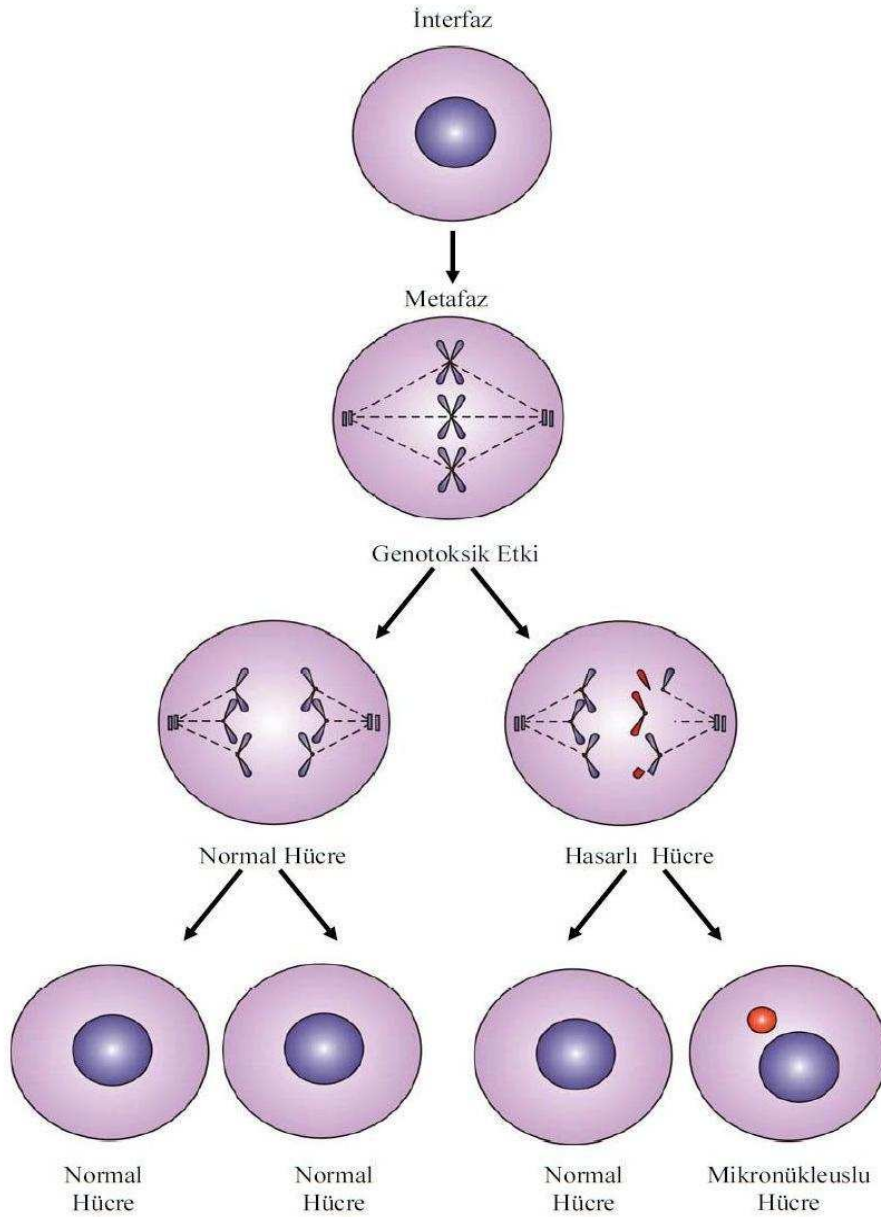
- Hızlı sonuç vermesi.
- Ekonomik açıdan ucuz olması.
- Analiz için az sayıda örneğin yeterli olması.

Günümüzde bu kriterleri sağlayan, birçok doku ve organizma üzerinde in vivo ve in vitro olarak en yaygın kullanılan test metotlarının başında mikronükleus testi gelmektedir [29, 30].

2.3.1. Mikronükleus testi

Mikronükleus test yöntemi ilk defa 1970'lerin ortalarında tanıtılmıştır [31]. Mitotik hücre bölünmesinin metafaz/anafaz geçiş safhaları esnasında klastojenik etki sonucu kromozomlardan kopmuş olan fragmentlerin ya da anojenik hatalara bağlı olarak ana nükleusa dahil olamayan tam kromozomlardan oluşan ve hücre bölünmesi sonucunda sitoplazma içerisinde ana nükleus yanında gözlenen ikinci bir küçük nükleus yapısı mikronükleus olarak adlandırılmaktadır [32]. Mikronükleus oluşumunu indükleyen her ajan klastojen veya anojen olmayabilir. Mikronükleus oluşumuna gen amplifikasyonu veya apoptozis gibi diğer bazı etkenlerde yol açabilmektedir. Şekil 2.1.'de görüldüğü üzere genotoksik etkiler sonucunda metafazda gözlenen kromozomal fragmentler ya da tam kromozomlar, hücre bölünmesi bitiminde oluşan kardeş hücrelerden birinde tekrar kromatin halde kondanse olarak ana nükleus yanında küçük ikinci bir nükleus halinde kendilerini göstermektedir.

İlk olarak memeli sistemler için geliştirilmiş olan mikronükleus testi, farklı etmenlerin genotoksik etkilerinin araştırılmasında oldukça yaygın olarak kullanılan bir test metodu haline gelmiştir. İnterfaz hücrelerinde mikronükleus sayımı teknik açıdan metafaz analizlerine oranla çok daha kolay ve hızlı bir yöntemdir. Bu nedenle son yıllarda bir genotoksisite test metodu olarak mikronükleus testine olan ilgi artmış ve memeliler dışındaki diğer omurgalılar yanında bazı omurgasız hayvanlar ile bitkilere de uygulanmaya başlanmıştır [29, 30].



Şekil 2.1. Mikronükleus taşıyan bir hücrenin oluşum aşamaları [30].

Uzun zaman boyunca sadece fizyolojik ve biyokimyasal çalışmalarda kullanılan balıklar son yıllarda sitogenetik ve genetik toksikoloji araştırmalarında da model organizma olarak kullanılmaya başlanmışlardır. Sucul ortamlarda besin zincirinde üst sıralarda bulunmaları yanında solunum için yüksek oranda su kullanmaları, kirleticilere maruz kalma oranlarını oldukça etkin kılmaktadır. Bu nedenle, özellikle

son yıllarda balık doku ve hücrelerinin genetik toksikoloji alanında kullanımına ait çalışmalarda artış görülmüştür [33].

Laboratuvar koşullarında saklanabilmeleri ve kimyasallara maruz bırakılabilmeleri oldukça kolay olduğu için, diğer yüksek omurgalılar ve insan sağlığı için risk oluşturabilecek kimyasalların incelenmesinde balık türleri in-vivo genotoksisite testlerinde kullanılabilen önemli organizmalar haline gelmişlerdir. Bugüne kadar balıklar üzerindeki genotoksik etkiler farklı türlerde ve farklı dokularda farklı yöntemler kullanılarak incelenmiştir [33].

Özellikle balıklar üzerinde kullanılabilirliğinin uygun olması nedeni ile mikronükleus testi son yıllarda giderek artan oranda kullanılan bir test metodu haline gelmiştir. Balık eritrositleri çekirdekli olduklarından dolayı, bu hücrelerin mikronükleus testinde kullanımı son derece kolaydır. Gerek in-situ gerekse laboratuvar koşullarında yapılan çalışmalarda genotoksik maddelere maruz kalan balıklarda mikronükleus frekanslarının anlamlı düzeyde arttığı gözlenmiştir [34].

2.4. Sentetik Piretroid

Çevre sağlığı açısından en önemli konu pestisitlerin yapılarında bulunan etkili madde grubudur. Pestisitler; inorganik pestisitler, sentetik organik pestisitler ve doğal orijinli pestisitler olarak üç gruba ayrılırlar. İnorganik pestisitler; arsenikli, cıvalı, florlu, bakırlı pestisitler olarak 4 alt gruba, sentetik organik pestisitler; klorlu, fosforlu, karbamatlı pestisitler ve sentetik piretroidler olarak dört alt gruba, doğal pestisitlerde pyrethrum, nikotin ve rotenonlar gibi alt gruplara ayrılmaktadır [35].

Piretroidler doğal çevrede kolayca parçalanan lipofilik insektisit sınıfındandır. Parçalanmanın iki ana yolu fotodegradasyon ve biyodegradasyondur. Tarımda kullanılmak için geliştirilmiş piretroidler fotostabil doğal pyrethrinlerden ya da genç hassas türevlerinden daha fotostabildir. Fakat yine de izomerizasyon ve ester yıkılması gibi birçok değişikliği başlatan güneş ışığına duyarlıdır. Piretroid metabolizmasının temel yolları merkez ester bağının hidroliziasit ve alkol

oksidasyonunu içerir [39]. Kuşlar ve memeliler, böcekler ve balıklardan daha hızlı metabolize olurlar. Bitkilerde başlangıç metabolik aşamaları hayvanlardakiyle aynıdır. Toprakta piretroidler aynı tip transformasyona, hidrolize ve oksidasyona maruz kalırlar [39].

Sentetik piretroidler memelilerde ve böceklerde, periferik ve merkezi sinir sistemlerindeki sodyum kanallarıyla etkileşerek aksonlara toksik etki yapmaktadır. Toksik etki yapan tek bir dozda memelilerde titreme, yüksek heyecan, tükürük salgılanması ve paraliz görülür. Belirtiler oldukça hızlı bir şekilde açığa çıkar. Letal doz seviyelerinde siyatik sinirlerin aksonlarında şişmeler ve çatlamalar; miyelin dejenerasyonu gibi geçici değişikliklere sebep olurlar [36,37].

Bazı piretroidler (deltametrin, fenvalerate, cyhalothrin, lambda-cyhalothrin, flucythrinate ve cypermethrin) insan derisine muamele edildiklerinde kaşıntı ve yanma hissedilebilir. Sentetik piretroidler memelilerde ester hidrolizi, oksidasyon ve konjugasyonla metabolize edildiğinden; dokularda birikme eğilimi göstermezler. Bu yüzden organizmalardaki biyolojik birikimleri azdır. Doğada, sentetik piretroidler, oldukça hızlı bir şekilde toprakta ve bitkilerde yıkıma uğrarlar. Ester hidrolizi ve oksidasyon önemli yıkım reaksiyonlarıdır. Piretroidler toprak ve sediment tarafından kuvvetle adsorbe edilirler [38].

Piretroidlerin toksisiteleri, sudaki sıcaklığın ve asitliğin artmasıyla artar. Doğal pyrethrinlerin yağdaki çözünürlükleri fazladır. Fakat kolayca adsorbe olduklarından vücutta birikmezler. Az uygulanmaları ve çevreye bağlı hızlı yıkıma uğramaları nedeniyle yiyeceklerdeki kalıntıları azdır. Dolayısıyla "güvenilir" kabul edilmektedir [38]. Günümüzde memeliler için oldukça güvenli fakat böceklerle seçici toksik olmaları nedeniyle piretrin ve sentetik piretroid insektisitler tercih edilmektedir [40,41].

Sentetik piretroidler memelilere ve/veya böceklerle, periferik ve merkezi sinir sistemlerindeki sodyum kanallarıyla etkileşerek aksonlara toksik etki yapmaktadır.

Balıklara, sucul arthropodlara, bal arılarına toksik olduğu laboratuvar testleriyle gösterilmiştir [42].

Sentetik organik pestisitler daha önce de bahsedildiği üzere; klorlu, fosforlu, karbamatlı pestisitler ve sentetik piretroidler olmak üzere 4 alt gruba ayrılmaktadır.

Bu 4 alt grubun etki mekanizmaları Çizelge 2.2.'de verilmiştir.

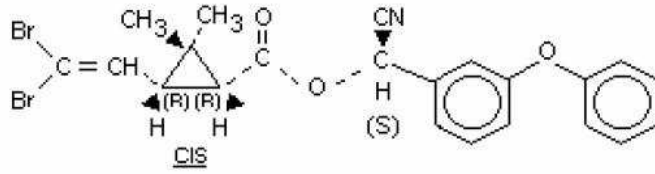
Çizelge 2.2. Sentetik organik pestisitlerin etki mekanizmaları [45]

Sentetik Organik Pestisitler	Etki mekanizması	Örnek
Karbamatlar	Asetilkolinesterazın inhibisyonu ile sinir sistemi fonksiyonunu bozar.	Karbaril, Aldikarb, Maneb
Organoklorlu Bieşikler	Sinir membranlarının depolarizasyonlarına sebep olarak sinir sistemi fonksiyonunu bozar.	DDT,Lindan, Klordan, Klordekan
Organofosfatlar	Asetilkolinesterazın inhibisyonu ile sinir sistemi fonksiyonunu bozar.	Paration, Malathion, Diazinon
Sentetik Piretroidler	Sinir membranının sodyum iyonu geçirgenliğini etkileyerek sinir sistemi fonksiyonunu bozar.	Deltametrin, Permethrin, Fenvalerat

2.5. Deltametrin

Kimyasal ismi: (s)-alfa-siyano-3-fenoksibenzilcis-(1R,2R)-3-(2,2-dibromovinil)-2,2-dimetilsiklopropankarboksilat

Kimyasal yapısı:



Şekil 2.2. Deltametrin'in kimyasal formülü [46].

Molekül ağırlığı: 505,2

Erime noktası: 98-101°C

Buhar basıncı: $1,5 \cdot 10^{-8}$ mmHg (25°C)

Ampirik formül: $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$

Deltametrin, sineklerde öldürücü etkisi yüksek olan bir α -siyano piretroitdir. Piretroitler, yapısal olarak piretrumdan şekillenen farmakolojik olarak etkin, pestlere karşı ve tarım alanlarında yaygın olarak kullanılan sentetik bileşiklerdir [8,9]. Deltametrin, sinekler, diğer antropotlar ve balıklar için son derece zehirlidir. Memelilerde ise metabolizması ve atılımı hızlı olduğu için zehirliliği oldukça düşüktür. Decis ve K-othrin ticari isimleriyle tanınır. Zehirli etkilerini gerek sineklerde, gerekse memelilerde öncelikle sinir sistemi üzerinde gösterir. Piretroit insektisitlerin, alerjik ve immünolojik etkileri de vardır [44,46]. Piretroit zehirlenmeleri, hiper hassasiyet, aşırı salivasyon, koreoatetoz, titreme ve felç ile açığa çıkar fakat duyumsal sinirlerde hiçbir tekrarlayan sinir atışları görülmez. Zehirlenme belirtilerindeki bazı farklılıkların dışında, tüm piretroid tipleri için temel

hedef sodyum kanalıdır. Tüm aktif piretroidler uyarılabilir doku içindeki sodyum kanallarıyla etkileşir ve zar depolarizasyonu ile sodyum akımını uzatır [47].

Sentetik piretroit grubu pestisitler memelilerde ester hidrolizi, oksidasyon ve konjugasyonla metabolize edildiğinden dokularda birikme özelliği göstermezler. Bu yüzden organizmalarda biyolojik birikimi azdır [43]. Ancak balıklarda ve bazı sucül canlılarda oldukça toksik olduğu bilinmektedir. Lipofilik özelliklerinden dolayı solungaçlardan absorpsiyonları yüksek orandadır. Bu da balıkların piretroitlere duyarlılığını artırmaktadır [44].

2.6. *Pseudorasbora parva* (Temminck & Schelegel, 1846)

Pseudorasbora parva, doğal yayılış alanı Doğu Asya olan küçük bir Cyprinid türüdür. Bu türün varlığı, Türkiye'de ilk defa 1982'de Trakya bölgesinde, 1996'da ise Aksu Çayı'nda saptanmıştır. Küçük boylu balıklardır, ekonomik önemi yoktur. Total boy en fazla 80–85 mm. nadiren 110 mm.ye ulaşır. Vücut küçük siyah noktalar halinde siyah pigmentli, orta büyüklükte, kolay dökülen sikloit pullarla kaplıdır. Yanal çizgi tamdır ve vücudun ortasında yer alır. Vücudun genel rengi gri-açık kahverengidir, taze numunelerde sırtta yeşil yansımalar gözlemlenmiştir. Yanal çizginin üstündeki pulların serbest kenarı bol miktarda küçük noktalar halinde kahverengi pigmentlerle çevrilmiştir [48].

Pseudorasbora parva'nın yüksek üreme kapasitesi, bulunduğu ortamda yoğun populasyon oluşturma üstünlüğüne sahiptir. Herhangi düzgün yüzeyli bir obje; dal, yaprak, plastik substrat, üzerine yumurtlayabilir [49]. Üreme döneminde erkeklerin başında tüberküller belirir, dorsal ve anal yüzgeçler siyah renge dönüşür [50].

Orta dereceli kirliliğe, sıcaklık yükselmesine, düşük su seviyesine oldukça dirençlidir, ayrıca tehlikeli hastalıkların doğal balık faunasına dağılmasında aracı olarak rol oynamaktadır [49].

Pseudorasbora parva küçük balıklar, diğer omurgalı canlılar keza balık yumurtalarıyla beslendiği için işgalci bir türdür. Ayrıca yüksek üreme yeteneğinden dolayı, aynı ortamı paylaştığı ekonomik önemi olan diğer türlerin yavruları ile rekabet içindedir [51].

P. parva'nın Türkiye'deki coğrafik dağılımı incelendiğinde, ülkemizin akarsu sistemlerine hızla dağıldığı ve başarıyla yerleştiği anlaşılmaktadır. *P. parva*'nın populasyon büyümesi ve coğrafik dağılımdaki yüksek başarısı, ekolojik hoşgörü sınırlarının geniş olması ile açıklanabilir [49].

Pseudorasbora parva'nın Sistematigi

Alem: Animalia

Sube: Chordata

Üst sınıf: Pisces

Sınıf: Actinopterygii

Takım: Cypriniformes

Familiya: Cyprinidae

Cins: *Pseudorasbora*

Tür: *Pseudorasbora parva* (Temminck&Schlegel, 1842)

2.7. Deltametrinin Balıklar Üzerindeki Akut Toksisite ve Genotoksitesiyile İlgili Yapılan Çalışmalar

Literatür araştırmasında deltametrinin *Pseudorasbora parva*'da akut toksisitesine ilişkin çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak deltametrinin farklı balık türleri üzerindeki akut toksik etkisine ilişkin çalışmalar mevcuttur. Bunlardan bazıları aşağıda verilmiştir.

Golow ve Godzi *Oreochromis niloticus*'da deltametrin için 96 saatlik LC₅₀ değerini 14,5 µg/L olarak tespit etmişlerdir. Dieldrine ait veriler ile karşılaştırıldığında deltametrin dieldrine göre daha toksik olduğunu belirtmektedirler [52].

Viran ve arkadaşlarının deltametrinin *Poecilia reticulata*'da akut toksisite ve davranış değişimlerini inceledikleri çalışmada deltametrinin 48 saatlik LC₅₀ değeri 5,13 µg/L olarak tespit edilmiştir. Deltametrine maruziyet sonucundaki davranış değişimlerine ilişkinde su üzerinde duramama, denge kaybı ve kuyruk üstüne düşme şeklinde farklı davranışlar gözlemlendiği bildirilmektedir [53].

Kumar ve arkadaşları deltametrinin *Heteropneustes fossilis* üzerine akut toksik etkisini ve hematolojisini araştırdıkları çalışmada LC₅₀ değerini 0,52 mg/L olarak tespit etmişlerdir [54].

Svobodova ve arkadaşları deltametrinin juvenil *Cyprinus carpio*'larda hematolojik değişimlerini inceledikleri çalışmada 96 saatlik LC₅₀ değerini 0,058 mg/L olarak tespit etmişlerdir [55].

Al-Ghanbouis ve arkadaşlarının *Aphanius dispar*'ın solungaçları üzerinde deltametrin etkisini araştırdıkları çalışmada balıkları 3 ayrı konsantrasyona (2,25, 2,50, 3,00 µg/L) maruz bırakmışlar. Deney sonucunda en büyük hasarı 3,00 µg/L uygulanan grupta gözlemlediklerini belirtmişlerdir [56].

Sharma ve Ansari'nin deltametrin ve Achook pestisitlerinin zebra balığının (*Danio rerio*) üreme yeteneğine etkisini araştırdıkları çalışmada subletal doz olarak deltametrin için 0,016 µg/L, Achook için 0,025 µg/L kullanılmış ve 3 ay süresince balıklar bu dozlara maruz bırakılmıştır. Deney sonucunda yumurta veriminin deltametrin uygulanan grupta %54,12, Achook uygulanan grupta %17,81 oranında azaldığını tespit etmişlerdir [57].

Velisek ve arkadaşlarının *Oncorhynchus mykiss*'de deltametrinin etkisini araştırdıkları çalışmada LC₅₀ değerini 0,02 mg/L olarak tespit etmişlerdir. Akut toksisite testi sonunda hematolojik, biyokimyasal ve histolojik incelemelerde bulunmuşlardır [58].

Data ve Kavirajın *Clarias gariepinus* üzerinde deltametrinin akut toksik etkisini araştırdıkları çalışmada deltametrin iki ayrı çözücünde (su ve aseton) çözündürülerek karşılaştırılmıştır. 96 saat sonunda su kullanılarak hazırlanan stokta LC₅₀ değeri 40,01 mg/L tespit edilirken, aseton kullanılarak hazırlanan stokta LC₅₀ değerinin 0,004 mg/L olarak tespit edildiği belirtilmektedir [59].

Yıldırım ve arkadaşlarının *Oreochromis niloticus*'da deltametrinin akut toksik, davranış değişimleri ve dokularda histopatolojik etkilerini araştırdıkları çalışmada 48 saatlik LC₅₀ değeri 4,85 µg/L olarak tespit etmişlerdir [60].

Sayeed ve arkadaşlarının deltametrinin *Channa punctatus* üzerindeki oksidatif stresinin araştırıldığı çalışmada 96 saatlik LC₅₀ değerini 1,5 µg/L olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada LC₅₀ değerinin yarısı 0,75 µg/L'ye balıklar 48 saat süresince maruz bırakılarak bazı enzimlerdeki değişimler incelenmiştir [61].

Kan ve arkadaşlarının deltametrine maruz bırakılan *Oreochromis niloticus*'un eritrositlerindeki mikronükleus frekansı ve solungaç, karaciğer dokusundaki histopatolojik değişimlerdeki E vitaminin rolünü araştırmışlardır. Çalışmada E vitamininin, deltametrin tarafından uyarılan genotoksisite ve histopatolojik değişiklikleri azalttığını belirtmektedirler [62].

Köprücü ve Aydın'ın *Cyprinus carpio*'nun embriyo ve larvalarında deltametrinin genotoksik etkisini araştırdıkları çalışmada 48 saatlik LC₅₀ değeri embriyo ve larvada sırasıyla 0,213 ve 0,074 µg/L tespit edilmiştir [63].

Ansari ve arkadaşlarının *Channa punctata* eritrositlerinde deltametrinin genotoksik etkisi ve yarattığı oksidatif stresi inceledikleri çalışmada balıklar 48 ve 72 saat süresince 3 farklı deltametrin konsantrasyonuna (0,4, 0,8, 1,2 µg/L) maruz bırakılmıştır. 72 saat sonunda eritrositlerde loblu, çentikli ve ikili nükleus tiplerine rastlanmıştır. Antioksidan enzim ve superoksit dismutaz aktivitesinde önemli derecede azalma tespit edilmiştir [64].

Amin ve Hasmen deltametrinin yol açtığı oksidatif stres ve yayın balığının doku ve kanındaki biyokimyasal değişiklikleri inceledikleri çalışmada ek olarak deltametrin kaynaklı oksidatif stres üzerine α -tokoferol'un koruyucu etkisini araştırmışlardır [65].

Çalta ve Ural'ın deltametrinin aynalı sazanların (*Cyprinus carpio*) genç bireylerinde akut toksik etkisini belirledikleri çalışmada 96 saatlik LC₅₀ değeri 1,65 µg/L olarak tespit edilmiştir [66].

Verep, *Leuciscus cephalus*'da deltametrinin 96 saatlik LC₅₀ değerini 5,226 µg/L olarak tespit etmiştir [67].

Ural ve Sağlam'ın deltametrine maruz kalan *Oncorhynchus mykiss* üzerindeki akut toksik etkisi ile ilgili çalışmalarında 96 saatlik LC₅₀ değeri 0,6961 µg/L olarak tespit edilmiştir [68].

Srivastas ve arkadaşları *Heteropneustes fossilis*'in serumunda kalsiyum ve inorganik fosfat seviyelerine deltametrin etkisi ile ilgili araştırmışlarında 96 saatlik LC₅₀ değerinin 1,86 µg/L olduğunu belirtmektedirler [44].

3. MATERİYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Deney yeri

Araştırma, Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapılmıştır (Resim 3.1.).



Resim 3.1. Deney ortamı

3.1.2. Balık materyali

Bu çalışmada, klinik olarak sağlıklı ve herhangi bir toksik maddeye maruz kalmamış olan $0,65 \pm 0,45$ g ağırlığında ve $4,38 \pm 1,30$ cm boylarında çizgili sazancıklar (*Pseudorasbora parva* Temminck and Schlegel, 1846) kullanılmıştır. Balıklar Hacettepe Üniversitesi balık havuzlarından temin edilmiştir.

3.1.3. Pestisit materyali

Deney maddesi olarak deltametrin (%98) kullanılmıştır. Deltametrin analitik saflıkta asetonda çözülerek uygulanmıştır. Deneyler boyunca $+4^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır. Kullanım öncesinde ortam sıcaklığına getirilerek deney akvaryumlarına uygulandı.

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 ve sertlik Palintest (Photometer 7100) ile fotometrik olarak ölçülmüştür.

Deneyde kullanılan akvaryum suyunun su kalite parametreleri ortalama değerler olarak Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Deneylerde kullanılan su kalite parametre değerleri

Sıcaklık (°C)	22,6
pH	7,53
Çözünmüş oksijen (DO, mg/L)	5,41
Salinite (ppt)	0,10
Kondüktivite ($\mu\text{s}/\text{cm}$)	197,7
Amonyak ($\text{NH}_3\text{-N}$, mg/L)	0,001
Sertlik (CaCO_3 , mg/L)	65

3.2. Metod

3.2.1. Akut toksisite deneyi

Biyodeneyden önce stok akvaryumda bulunan balıklar 2,5 L’lik cam kavanozlara 10’ar adet aktarılmış ve 3-4 gün bu ortama adapte olmaları sağlanmıştır. Biyodeneyden önceki 48 saat ve deney süresince balıklar aç bırakılmıştır. Denemelerde, statik biyodeney yöntemi kullanılmıştır [69]. Önce ön deneyler yapılarak ana deney konsantrasyonları belirlenmiştir.

Deney 96 saat sürdürülmüştür. Dozlamadan sonra ilk 8 saat balıklar davranış, genel durum ve ölüm için devamlı olarak gözlenmiş, daha sonra 24 saatlik periyotlarda gözlemlere devam edilerek, ölü balıklar sayılmış ve ortamdan uzaklaştırılmıştır.

Araştırma sonuçlarının değerlendirilmesi EPA Probit Analiz Yöntemine göre yapılmış LC_{50} ve %95 güven sınırları tespit edilmiştir [70]. Ayrıca LC_{50} değeri Behrens Karber yöntemiyle $LC_{50} = LC_{100} - \frac{ab + + ab}{n}$ formülü kullanılmak suretiyle hesaplanmıştır [71].

3.2.2. Mikronükleus testi

Mikronükleus testi için LC_{50} değeri temel alınarak bunun 1/10'u olan 68 µg/L seçilmiştir. Deneyde kontrol (çeşme suyu), aseton kontrol ve pozitif kontrol grubu etil metil sulfonat (EMS) olmak üzere 3 ayrı kontrol grubu kullanılmıştır. İçerisinde önceden dinlendirilmiş ve kloru giderilmiş su bulunan 2,5 L'lik cam kavanozlara 5'er balık konulmuştur. Deney 96 saat sürdürülmüştür. Deney boyunca balıklara yemleme yapılmamıştır.

Kan örnekleri, buz anestezisi altında kalpten punksiyonla alınmıştır. Bu amaçla sol taraf üzerine yatırılan balığın solungaç kapağı kaldırıldıktan sonra 1 ml'lik steril ve tek kullanımlık enjektörler ile 40-45 derecelik bir açı yapacak şekilde kalbe girilerek kan çekilmiştir. Kanın pıhtılaşmasını önlemek amacıyla antikoagüent olarak ticari adı nevarin olan heparin kullanılmıştır. Kan çekilecek enjektörün duvarları ticari heparin solüsyonu ile sıvanarak heparinize edilmiştir [72,73].

Alınan kan örnekleri, her örnek için önceden hazırlanmış olan üç temiz lama ince bir tabaka oluşturacak şekilde yayılmışlardır. Hazırlanan preparatlar havada kurutulduktan sonra %95'lik etanolde 20 dk süresince fikse edilmişlerdir. Fikse edilen preparatlar tekrar havada kurutulduktan sonra %5'lik Giemsa solüsyonunda 20 dk süresince boyanmışlardır. Boyama işleminden sonra preparatlar saf sudan geçirilerek fazla boyanın atılması sağlanmıştır. Daha sonra preparatlar mikroskop altında değerlendirmeye alınmışlardır. Her preparattan 1000 hücre sayılarak mikronükleus değerlendirmesi yapılmıştır.

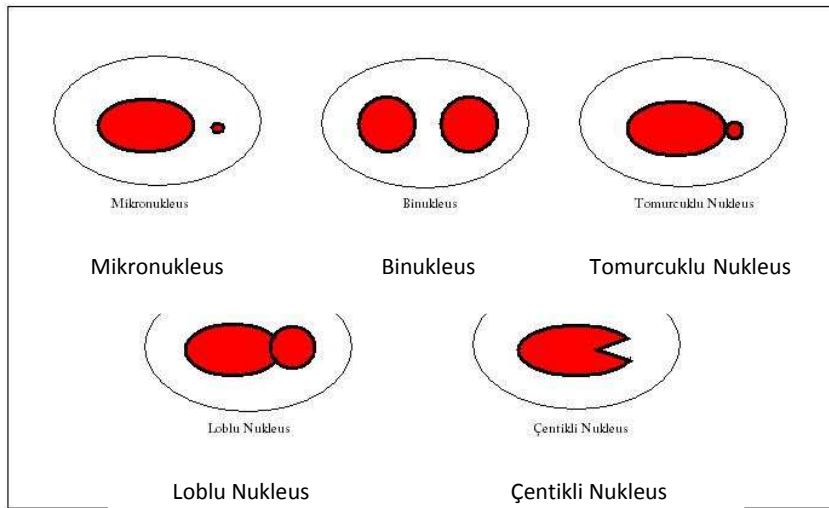
Periferal eritrositlerdeki mikronükleus ve diğer nükleus düzensizlikleri şematik olarak Şekil 3.1.'de gösterilmiştir.

a) Çentikli Nükleus: Nükleus zarında nükleus içerisine doğru oluşan, gözle belirgin bir biçimde ayırt edilebilen ve kromatin içermeyen çentik şeklindeki girintilere sahip nükleus yapısı.

b) Tomurcuklu Nükleus: Nükleus zarından dışarı doğru çıkıntılar yapan, kromatin içeren küçük tomurcuklanmalara sahip nükleus yapısı.

c) Loblu Nükleus: Tomurcuklara oranla daha büyük ve/veya daha fazla sayıda loblar içeren nükleus yapısı.

d) Binükleus: Bir hücre içerisindeki iki adet nükleus bulunma durumu [74].



Şekil 3.1. Periferal eritrositlerde mikronükleus ve morfolojik nükleus düzensizlikleri [75].

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 16 paket programında Mann-Whitney U ve Kolmogrov-Smirnov Z non-parametrik yöntemleri kullanılarak önem seviyesi 0.05 olarak alınmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Akut Toksisite Deney Sonuçları

Pseudorasbora parva üzerine etki eden deltametrin pestisitinin akut toksisite sonuçları tespit edilmiş ve davranış değişiklikleri gözlenmiştir. *P. parva* bireylerinin ölüm oranları ve davranış değişimleri 96 saat süresince kayıt edilmiştir. Uygulanan deltametrin konsantrasyonları ve ölüm oranları arasındaki ilişkiye ait bulgular Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Çalışmada statik biyodeney sonucunda 96 saatlik LC₅₀ değeri 685,506 µg/L olarak tespit edilmiş olup akut toksisite değerleri Çizelge 4.2. ve Şekil 4.1. de verilmiştir. Balıkların tamamını öldürebilecek minimum konsantrasyon 831,629 µg/L iken ölümün olmayacağı konsantrasyon 565,058 µg/L'nin altındadır. Kontrol grubunda ve aseton kontrol grubunda balık ölümü görülmemiştir. Ayrıca akut toksisite deneyi sonuçları Behrens Karber yöntemi ile test edilmiş olup LC₅₀ değeri 687,5 µg/L olarak hesaplanmıştır. Her iki yöntemle bulunan LC₅₀ değerleri arasında önemli bir fark olmadığı anlaşılmıştır.

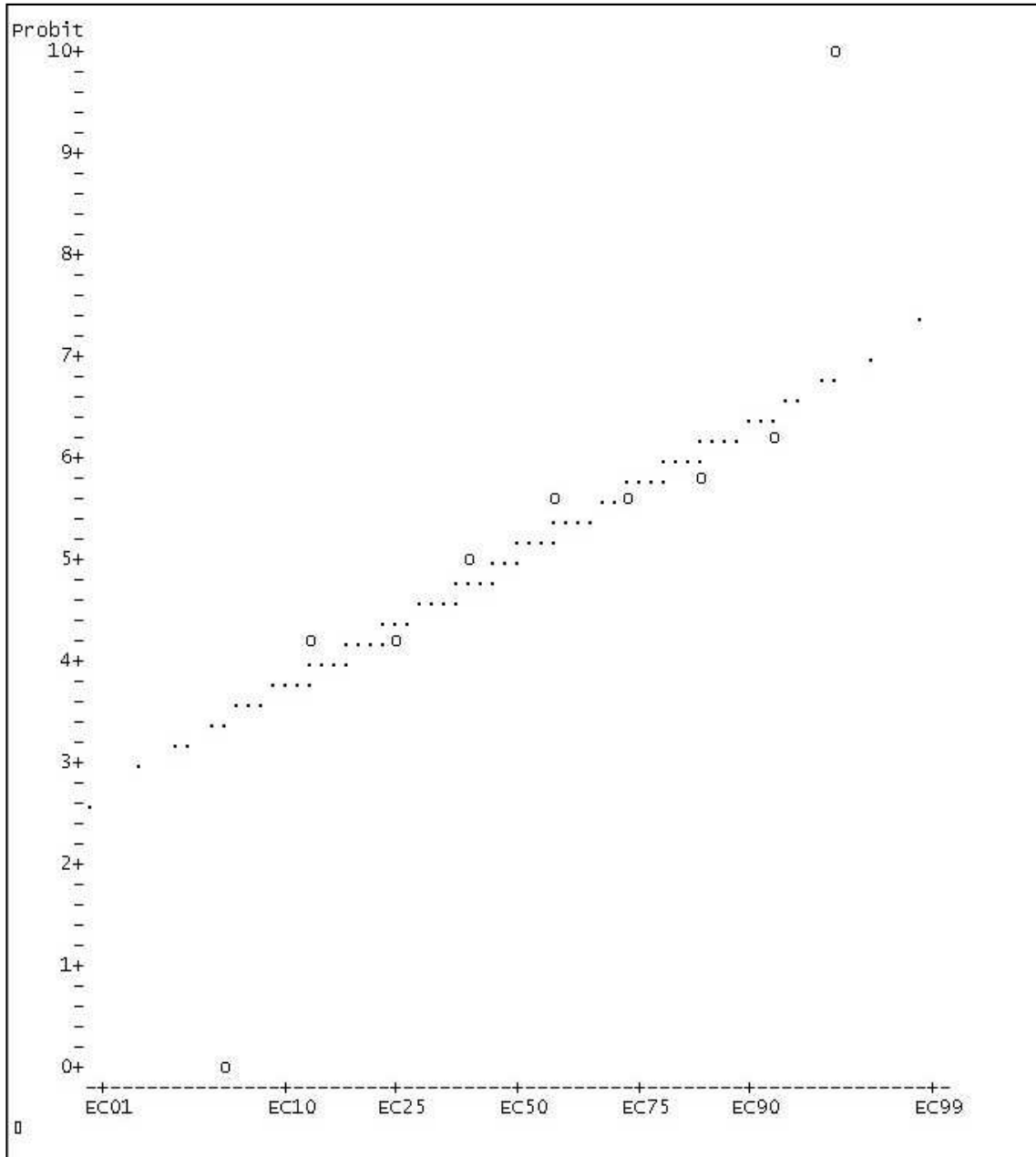
Çizelge 4.1. *P. parva*'nın ölüm oranı ve deltametrin konsantrasyonu arasındaki ilişki

Konsantrasyon (µg/L)	Balık Sayısı	Ölen Balık Sayısı	Gözlenen Değerler	Kontrol Grubuna Göre Ayarlanan Değerler	Tahmin Edilen Değerler
600	10	-	0,0000	0,0000	0,0544
625	10	2	0,2000	0,2000	0,1330
650	10	1	0,2000	0,2000	0,2610
675	10	5	0,5000	0,5000	0,4262
700	10	7	0,7000	0,7000	0,5994
725	10	7	0,7000	0,7000	0,7500
750	10	8	0,8000	0,8000	0,8605
775	10	9	0,9000	0,9000	0,9302
800	10	10	1,0000	1,0000	0,9685

Çizelge 4.2. Deltametrinin *P. parva* bireylerindeki 96 saatlik akut toksisitesi

Nokta	Konsantrasyon ($\mu\text{g/L}$)	%95 Güven Sınırları
LC 1.00	565,058	505,917 - 597,871
LC 5.00	597,962	550,556 - 624,660
LC 10.00	616,282	575,618 - 639,792
LC 15.00	628,963	592,937 - 650,473
LC 50.00	685,506	665,679 - 704,335
LC 85.00	747,134	724,429 - 786,784
LC 90.00	762,507	736,820 - 810,130
LC 95.00	785,867	754,948 - 846,695
LC 99.00	831,629	789,046 - 921,085

Parametre	Tahmin Edilen	Standart Hata	% 95 Güven Aralıkları
Kesim Noktası	-73,617119	13,815118	(-100,694748, -46,539486)
Eğim	27,721016	4,864733	(18,186138, 37,255894)



Şekil 4.1. *P. parva* bireylerinde 96 saatlik deltametrin için hesaplanan probit değerleri ve regresyon grafiği

4.1.1. Balıklarda görülen davranış değişiklikleri ve makroskobik bulgular

Bu çalışmada *Pseudorasbora parva* bireyleri deltametrinin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakıldıklarında çeşitli davranış değişiklikleri gözlemlenmiştir.

Kontrol grubunda hiçbir davranış değişimi olmamış, normal davranış ve yüzme hareketleri tespit edilmiştir. Deney grubundaki balıklar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önce hızlı hareket ettikleri daha sonraki zamanlarda bazı bireylerin daha yavaş hareket edip halsizleştikleri, kontrolsüz yüzme sergiledikleri, dururken aniden kıvrılıp yüzme ve su yüzeyinde yan yatar pozisyon aldıkları görüldü. Balıkların ölmeye yakın zamanda akvaryumun dip kısmında dengesiz bir şekilde yatar pozisyon aldıkları, solungaç hareketi yapmadıkları gözlemlendi. Ayrıca ölen balıkların ağızlarının açık, karın bölgelerinin kanamalı olduğu görülmüştür (Resim 4.1.).



Resim 4.2. Deney sonucu ölen bireyler

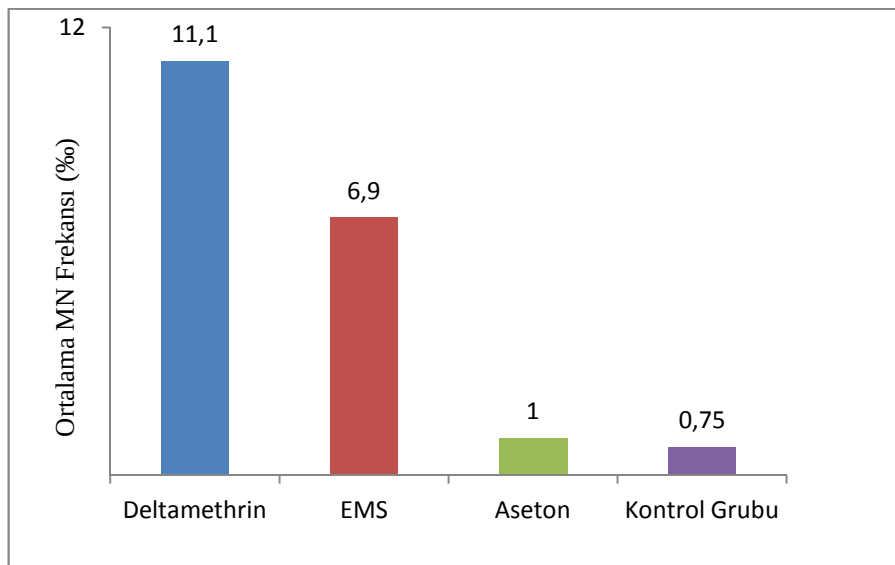
4.2. Mikronükleus Sonuçları

Bu çalışmada LC_{50} değerinin belirlenmesinden sonra subletal doz olarak belirlenen $68\mu\text{g/L}$ (LC_{50} değerinin $1/10$ 'u) *P. parva* bireylerine 96 saat süresince maruz bırakılarak kan eritrositlerindeki mikronükleus değişimleri tespit edilmiştir. 96 saat süresince *P. parva* bireylerinde ölüm ve davranış değişikliği görülmemiştir. Kan eritrositlerinde belirlenen mikronükleus frekansları Çizelge 4.3. ve Şekil 4.2.'de gösterilmiştir. En düşük ortalama MN frekansı kontrol grubunda (% 0,75) en yüksek ise deney grubu olan deltametrinde (% 11,1) görülmüştür.

Çizelge 4.3. *P. parva* bireylerinin eritrositlerindeki ortalama mikronükleus frekansları

Uygulama	MN frekansı/1000	SD	SEM	%95 Güven Aralığı	
				Alt	Üst
Kontrol Grubu	0,75	0,288	0,144	-0,7093	0,2093
Aseton Kontrol	1	0,816	0,408	-1,0992	1,4992
EMS	6,9	0,173	0,100	-0,5303	0,3303
Deltametrin	11,1	1,431	0,640	-1,6778	1,8778

S.D.: Standard Deviation, S.E.M.: Standard Error Mean



Şekil 4. 2. Gruplar arasındaki ortalama mikronükleus frekansları

Gruplar arasındaki MN frekansı Mann-Whitney U ve Kolmogrov-Smirnov Z testleri ile ikişerli olarak istatistiki açıdan değerlendirilmiştir (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. Deney grupları arasındaki farkın istatistiksel açıdan değerlendirilmesi

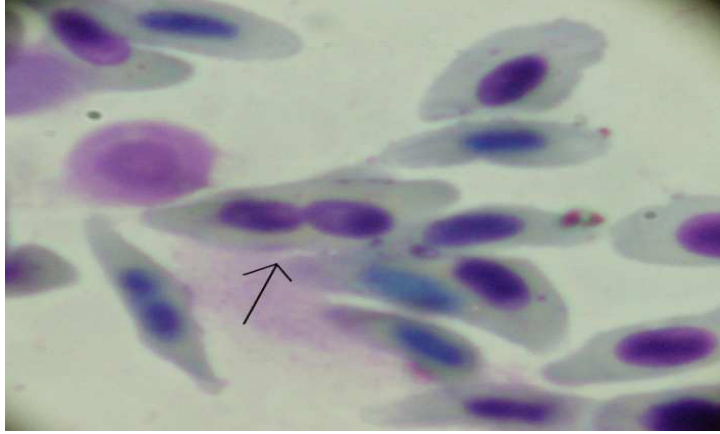
Gruplar	Mann-Whitney U Testi	Kolmogrov-Smirnov Z Testi
Deltametrin – EMS	,024*	,047*
Deltametrin – Aseton	,014*	,023*
Deltametrin – Kontrol	,013*	,023*
EMS - Kontrol	,029*	,065
EMS - Aseton	,031*	,065
Aseton - Kontrol	,536	,354

* $p < 0,05$

Çizelge 4.4.’de görüldüğü gibi Deltametrin-EMS, Deltametrin-Aseton, Deltametrin-Kontrol grupları arasındaki fark her iki testte de istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). EMS-Aseton, EMS-Kontrol grupları arasındaki fark ise Mann-Whitney U testine göre anlamlı çıkarken Kolmogrow Smirnov Z Testine göre anlamlı bulunmamıştır.

Aseton-Kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistikî açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Buna göre deney grubundaki MN oluşumundaki artışın kontrol gruplarına göre anlamlı olduğu tespit edildi.

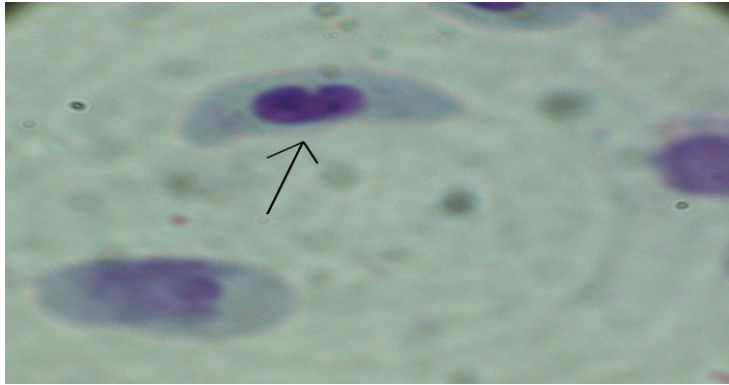
Pseudorasbora parva eritrositlerindeki nükleus değişimleri incelendiğinde farklı tipte nükleus bozuklukları tespit edildi. Belirlenen mikronükleus ve morfolojik nükleus düzensizlikleri Resim 4.2., 4.3., 4.4., 4.5., 4.6. ve 4.7. ’de gösterilmiştir.



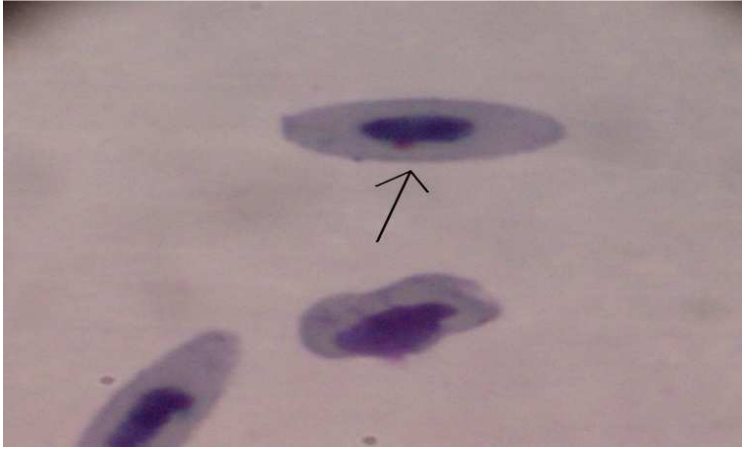
Resim 4.2. *P. parva* eritrositlerinde binükleus oluşumu



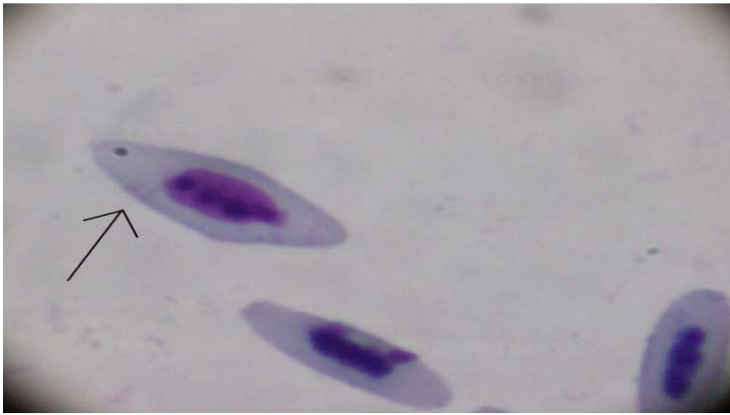
Resim 4.3. *P. parva* eritrositlerinde mikronükleus oluşumu



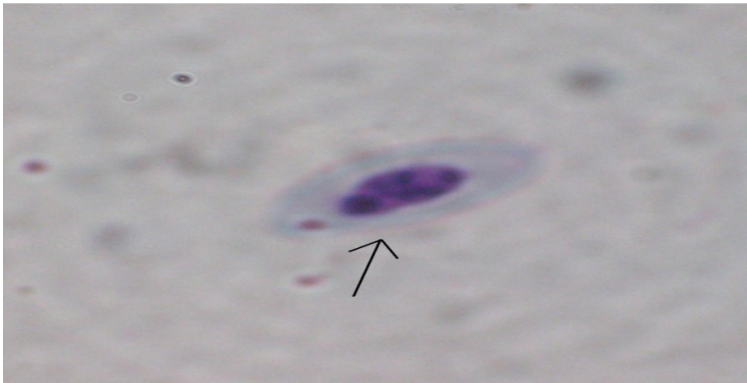
Resim 4.4. *P. parva* eritrositlerinde çentikli nükleus oluşumu



Resim 4.5. *P. parva* eritrositlerinde tomurcuklu nükleus oluşumu



Resim 4.6. *P. parva* eritrositlerinde mikronükleus oluşumu



Resim 4.7. *P. parva* eritrositlerinde mikronükleus oluşumu

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, deltametrinin *Pseudorasbora parva* (Temmick ve Schlegel, 1846) üzerindeki akut toksik etkisi tespit edilmiş ve 96 saat sürdürülen akut deney esnasında toksik maddenin balık davranışları üzerine etkileri incelenmiştir. Deney sonucunda elde edilen veriler doğrultusunda subletal doz uygulanarak eritrositlerdeki nukleus değişiklikleri mikronukleus testi ile analiz edilmiştir. 96 saat sonucunda LC₅₀ değeri % 95’lik güven sınırları içerisinde 685,506 (665,679 - 704,335) µg/L olarak saptanmıştır.

Yapılan literatür araştırmalarında deltametrinin *Pseudorasbora parva* üzerine akut toksik etkisine ilişkin bir çalışmaya rastlanmamıştır. Deltametrinin farklı balık türlerindeki toksik etkisi ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmaların bazılarında tespit edilen LC₅₀ değerleri Çizelge 5.1.’de verilmiştir.

Çizelge 5.1. Deltametrin farklı balık türleri üzerindeki LC₅₀ değerleri [76].

TÜR	DENEY METODU	SAAT	LC ₅₀ DEĞERİ	BİRİM	REFERANS
<i>Alburnus alburnus</i>	Statik	96	0,69	µg/L	Guylas and Csanyi,1984
<i>Channa punctata</i>	Statik	96	0,008	µg/L	Nath, 2009.
<i>Clarias batrachus</i>	Statik	96	480	µg/L	Ravinder et. al., 1989.
<i>Clarias gariepinus</i>	Statik	96	4	µg/L	Datta and Kaviraj, 2003.
<i>Cyprinus carpio</i>	Statik	96	1,65	µg/L	Calta and Ural, 2004
<i>Cyprinus carpio communis</i>	Statik	96	102	µg/L	Datta et. al., 2002
<i>Cyprinus carpio communis</i>	Statik	96	800	µg/L	Data et. al., 2002
<i>Danio rerio</i>	Statik	96	0,121	µg/L	Ansari and Sharma, 2009
<i>Esox lucius</i>	Statik	96	23	µg/L	Rao et.al., 1983
<i>Gibelion catla</i>	Statik	96	4,84	µg/L	Vani et.al.,2011
<i>Heteropneustes fossilis</i>	Statik	96	1,86	µg/L	Srivastav et. al., 2009
<i>Labeo rohita</i>	Statik	96	1000	µg/L	Rathnamma et. al., 2009
<i>Lepomis macrochirus</i>	Statik	96	0,36	µg/L	Hoechst Celanese Corp.
<i>Leuciscus cephalus</i>	Statik	96	5,338	µg/L	Verep, 2006
<i>Melanotaenia duboulayi</i>	Statik	96	0,135	µg/L	Thomas et. al., 2008
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Statik	96	0,6961	µg/L	Ural and Saglam, 2005
<i>Oreochromis mossambicus</i>	Statik	96	250	µg/L	Vijayavel and Balasubramanian, 2007
<i>Puntius sophore</i>	Statik	96	14,17	µg/L	Pawar et. al., 2009
<i>Rhodeus sericeus ssp.</i>	Statik	96	140000	µg/L	Guylas and Csanyi, 1984
<i>Silurus glanis</i>	Statik	96	0,686	µg/L	Koprucu et. al., 2006
<i>Tilapia sp.</i>	Statik	96	3,66	µg/L	Bajet et. al., 2012
<i>Tilapia zillii</i>	Statik	96	60	µg/L	Golow and Mensah, 1994
Bu çalışma <i>Pseudorasbora parva</i>	Statik	96	685,506	µg/L	2013

Ravinder ve arkadaşları (1989) *Clarias batrachus*'da deltametrinin 96 saatlik LC₅₀ değerini 480 µg/L, Rathnamma ve arkadaşları (2009) *Labeo rohita*'da 1000 µg/L olarak tespit etmişlerdir [77,78]. Bu değerler çalışmamızla karşılaştırıldığında yakınlık göstermektedir. Ancak Çizelge 5.1.'de yer alan deltametrinin 96 saatlik LC₅₀ değerleri genel olarak bizim çalışmamızda tespit edilen LC₅₀ değerinden daha

küçük olduğu anlaşılmıştır. Balıklarda tespit edilen LC_{50} değerlerinin türlere, ortam şartlarına, deney suyunun fiziksel ve kimyasal parametrelerindeki farklılıklara bağlı olarak değiştiği düşünülmektedir. Özellikle suyun pH'ı, toplam sertliği, çözünmüş oksijen miktarı ve iletkenlik gibi değerleri statik akut toksisite deneylerinde çok önemli etkilere sahip olmaktadır [79]. *P. parva*'nın istilacı bir tür olması, ortam değişikliklerine çabuk adapte olan özelliklere sahip oluşu diğer balık türlerine göre daha dayanıklı olduğunu göstermektedir.

Li ve diğerleri karbamat grubu insektisitlerden methomyl'in *P. parva* üzerindeki 24, 48, 72 ve 96 saatlik LC_{50} değerlerini sırasıyla 1228, 782, 538, 425 $\mu\text{g/L}$ olarak tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar çalışmamızdaki sonuçlarla benzerlik göstermektedir [80].

Data ve Kaviraj, deltametrinin *Clarias gariepinus* üzerindeki akut toksik etkisini belirlerken deltametrini su ve aseton da çözerek karşılaştırmışlardır. Su kullanılarak hazırlanan stokta 96 saatlik LC_{50} değeri 40,01mg/L, aseton da ise 0,004 mg/L olarak tespit edilmiştir. Aseton kullanılarak hazırlanan stok balıklar üzerinde daha toksik etki yarattığı görülmektedir. Çalışmamızda da aseton çözücü olarak kullanılmış ancak tespit edilen LC_{50} değeri bu çalışma ile yakınlık göstermemektedir. Farklılığın çalışılan türlerin toksik maddelere olan toleranslarından kaynaklandığı söylenebilir [59].

Bu çalışmada akut toksisite testi tamamlandıktan sonra tespit edilen LC_{50} değerinin (685,506 $\mu\text{g/L}$) 1/10'una (68 $\mu\text{g/L}$) 96 saat süresince maruz bırakılan balıklardan alınan kan örnekleri ile hazırlanan preparatlarda eritrositlerdeki nükleus değişimleri gözlemlenmiştir. Bu süreç içerisinde balık ölümlerine rastlanmamıştır. Deltametrin grubunun MN frekansı % 11,1 olarak saptanmıştır. Deltametrine maruz bırakılan deney grubu ile kontrol grupları arasındaki MN oluşumu farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Yapılan literatür araştırmasında deltametrinin *P. parva* eritrositlerinde MN testine ilişkin bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Ansari ve arkadaşları *Channa punctata* eritrositlerinde deltametrinin genotoksik etkisini inceledikleri çalışmada 72 saat sonunda eritrositlerde loblu, çentikli ve ikili nükleus tiplerine rastlamışlardır. Elde edilen sonuçlar çalışmamızla benzerlik göstermektedir [64].

Kan ve arkadaşları deltametrine maruz bırakılan *Oreochromis niloticus*'un eritrositlerindeki mikronükleus frekansı ve solungaç, karaciğer dokusundaki histopatolojik değişimlerdeki E vitaminin rolünü araştırdıkları çalışmada, E vitamininin uygulandığı grupta MN sıklığında azalma gözlemlemişlerdir. E vitaminin deltametrin uygulamalarında genotoksik ve histopatolojik etkileri azalttığını belirtmektedirler [62].

Deltametrin dışındaki pestisitlerin balıklar üzerindeki genotoksik etkilerinin test edildiği çeşitli çalışmalar mevcuttur. Yılayaz, chlorpyrifos ethylin'in *Capoeta trutta* bireylerinin eritrositlerinde mikronükleus oluşumuna etkisini araştırmıştır. En yüksek mikronükleus frekansı %2,19 ile 225 ppm'lik doza maruz bırakılan *C. trutta* bireylerinde tespit edilmiştir. Doz artışına bağlı olarak mikronükleuslu eritrosit sayısında artma olduğu belirtilmektedir [81]. Çavaş ve Ergene-Gözükara, piretroit grubu lambda-cyhalothrinin subletal dozuna maruz kalan *Garra rufa*'nın mikronükleuslu eritrositlerinde önemli ölçüde artış gözlemlemişlerdir [82]. Selvi ve arkadaşları, esbiothrinin *Cyprinus carpio* üzerinde genotoksik etkisini inceledikleri çalışmada, esbiothrinin mikronükleus oluşumunda önemli bir artışa sebep olduğunu bildirmektedirler [83]. Yılayaz, organofosforlu insektisitlerden biri olan parathion methyl'ine maruz kalan *Barbus rajanorum mystaceus*'un eritrositlerinde en yüksek mikronükleus frekansının %2,65 olarak tespit edildiğini ve doz artışına bağlı olarak mikronükleuslu eritrosit sayısında artma olduğunu gözlemlemiştir [84]. Neuparth ve arkadaşları *Sparus aurata*'da tarım alanlarında geniş kullanıma sahip olan endosülfanın etkisini incelemişlerdir. Çalışmada uygulanan doza ve süreye bağlı olarak *Sparus aurata* eritrositlerinin nükleuslarında düzensizlikler olduğunu ve mikronükleus frekanslarında önemli oranda artışlar gözlediklerini bildirmişlerdir [85].

Farklı tür ve farklı toksik maddelerle yapılan çalışmalar sonucunda mikronükleus testlerine ilişkin bulgular ile çalışmamızda deltametrin maruziyeti sonucunda *P. parva*'da saptanan mikronükleus düzensizlikleri arasında benzerlikler olduğu anlaşılmıştır.

6. ÖNERİLER

Pestisitlerin su sistemlerine bulaşmaları özellikle balıklar için potansiyel bir tehdit oluşturmaktadır. Toksik ilaçlar sudaki besin zincirinin son halkası olan balıkları etkilediği gibi, balık dokularında birikimi sonucu bu canlılarla beslenen diğer canlılarda da toksik etkiye sebep olmaktadır. Bu çalışmada kullanılan deltametrin pestisiti balıklar üzerinde oldukça toksiktir. LC_{50} değeri tespit edildikten sonra uygulanan subletal dozun *P. parva* eritrositlerinde genotoksik hasara yol açtığı görülmüştür. *P. parva*'nın istilacı bir tür olması, ortam değişikliklerine çabuk adapte olan özelliklere sahip oluşu diğer balık türlerine göre daha dayanıklı olduğunu göstermektedir. Ancak araştırmada elde edilen bulgular deltametrinin istilacı bir tür olan *P. parva* üzerinde de oldukça toksik olduğunu göstermektedir.

Gerek laboratuvar koşullarında gerekse doğal ortamlarında, balık eritrositlerinde yapılacak MN testleri sucul ortamlardaki toksik maddelerin genotoksik etkileşimleri hakkında bilgi edinilmesinde, diğer yöntemlere göre daha kolay ve ucuz bir seçenek olabileceği düşünülmektedir.

Çalışma sonucunda deltametrinin *P. parva* üzerindeki LC_{50} değeri tespit edilerek literatüre önemli bir katkı sağlanmıştır. 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. Vioque-Fernndez, A., “De Almeida, E.A. Lpez-Barea, J., Biochemical and proteomic effects in *Procambarus clarkii* after chlorpyrifos or carbaryl exposure under sublethal conditions”. **Biomarkers**. 14: (5) 299-310, (2009).
2. Kaya, H.,”Atıkhisar Barajı ve Sarıçay”da Pestisit ve Evsel Kirliliğin Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, **Çanakkale Onsekizmart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Çanakkale, 2-3 (2007).
3. Lloyd, R., Pollution and Freshwater. A Buckland Foundation Book, **Fishing News Books**, Cornwall, 176 (1992).
4. 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).
5. Toros, S. ve Maden, S. Tarımsal Savaşın Yöntem ve İlaçları, **A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları**, Ankara, 352 (1991).
6. Karakaya, M. and Boyraz, N., “Gıda Kirlenmesinde Pestisitler ve Korunma Yolları”, **Ekoloji Çevre Dergisi**, 4, 11-15 (1992).
7. “Gübre ve Tarım ilaçları” Devlet Planlama Teşkilatı, “9. Beş Yıllık Kalkınma Planı Kimya Sanayi Özel İhtisas Komisyonu Raporu, **DPT**, Ankara, (2008).
8. Stelzer, KJ., Gordon, MA., “Effects of Phyrethroids on Lymphocyte Mitogenic Responsiveness”, **Res Commun Chem Pathol Pharmacol**, 46(1): 137-150 (1984).
9. Szepvöllgyi, J., Nagy, K., Bedo, A., Regöly-Merei, A., Szerletics, M., Soos, K., Athal, M., “Examination of The Interaction of Decis and Dithane in Rat”, **TXCYA**, 53, 107-111 (1988).
10. Ekmekçi, F. G. and Kırankaya, S. G., “Distribution of an Invase Fish Species, *Pseudoraspora parva* (Temminck&Schlegel, 1846) in Turkey”, **Turk. J. of Zoology**, 30:1–6 (2006).
11. Arınç, E., Pestisit ve Tıbbi İlaçları Metabolize Eden Karışık Fonksiyonlu Oksidazlar, **Tarım İlaçlarının Kullanılması Semineri**, Gaziantep, 117-135 (1976).
12. Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C. ve Burçak, A. “Türkiye’de pestisit kullanımı, kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışsorunları” **Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongre.**, 2007.
13. Devlet Planlama Teşkilatı, “Beş yıllık kalkınma planı kimya sanayi özel ihtisas komisyonu raporu”, Tarım İlaçları, **DPT**, Ankara, 6-23 (2001).

14. Malley, M., Clinical Evaluation of Pesticide Exposure and Poisonings, *Lancet*, 349, 1161-66 (1997).
15. Berksan, N., Tarım İlaçları ve Çevre, *Tarım İlaçlarının Kullanılması Semineri*, Gaziantep, (1996).
16. Öztürk, S., Tarım İlaçları, *Ak Basımevi*, İstanbul, (1997).
17. Tuncer, E. "Tarımsal ilaçların çevre kirliliği üzerine etkileri ve alınması gereken önlemler", T.C. Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele ve Karantina Genel Müd., Sivas, 5s. (1987).
18. Toros, S. ve Maden, S. "Tarımsal Savaşım Yöntem ve İlaçları", *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yay.*, Ankara, (1991).
19. Lloyd R. "Pollution and freshwater fish", *Fishing News Books*, Oxford, UK., pp. 192., (1992).
20. Yıldız, M., Gürkan, O., Turgut, C., "Tarımsal Savaşımında Kullanılan Pestisitlerin Yol Açtığı Çevre Sorunları", *TMMOB Ziraat Mühendisleri 6. Teknik Kongresi*, Ankara, 1-22 (2005).
21. Siemering, G., David, N., Hay worth, J. and Franz, A., "Aquatic Pesticides Monitoring Program Literature Review", *San Francisco Estuary Institute*, California, 10-20, 35-45 (2005).
22. Kamrin, M. A., "Pesticide Profiles, Toxicity Environmental Impact, and Fate", *CRC- Lewis Publishers*, Florida, 421-578 (1997).
23. Svobodova, Z., Lloyd, R., Machova, J., Ammonia, J. "Water quality and Fish Health". *Eifac Technical Paper*, 54: 11-16 (1993).
24. Ünsal, M., "Kirlilik Deneyleri- Yöntemler ve Sonuçların Değerlendirilmesi" *ODTÜ Deniz Bilimleri Ens.*, Mersin, 120-142 (1996).
25. Teh, S. J., Adams, S. M. and Hinton, D. E. "Histopathological Biomarkers in Freshwater Fish Populations Exposed to Different Types of Contaminant Stres". *Aq. Toxicol.* 37: 51-70 (1997).
26. Kocataş, "Ekoloji ve Çevre Biyolojisi", *Ege Üniv., Su Ürünleri Fak. Yayınları*, Bornova-İzmir, 442-443 (1991).
27. Brusick, D. "Principles of genetic toxicology", *Plenum Press New York*, USA, 284p, (1987).
28. İnternet: "Environmental Mutagens by Dr. Michael Easton". Erişim: <http://www.reflectiveimages.com/EnvironmentalMutagens.htm>

29. Scarpato, R., Migliore, L. ve Barale, R. "The micronucleus assay in *Anadontacygnea* for the detection of drinking water mutagenity", **Mutation Research**, 245: 231-237 (1990).
30. Ma, T.H. "Tredescantia micronucleus bioassay and polen tube chromatidaberration test for in situ monitoring and mutagen screening", **Environmental Health Perspective**, 37: 85-90 (1981).
31. Fenech, M. and Crott, J.W. "Micronuclei, nucleoplasmic bridges and nuclear buds induced in folic acid deficient human lymphocytes-evidence for breakagefusion- bridge cycles in the cytokinesis-block micronucleus assay", **Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, Mutation Research**, 504:131-136 (2002).
32. Heddle, J.A., Hite, M., Kirkhart, B., Mavournn, K., Macgregor, J.T., Newell, G.W. and Salamone, M.F. "The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program", **Mutation Research**, 123: 61-118 (1983).
33. Ericson, G. ve Larsson, A. " DNA adducts in Perch (*Perca fluviatilis*) living in the coastal water polluted with bleached pulp mill effuents", **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 46: 167-173, (2000).
34. Könen, S., "Triflularin ve Askorbik Asit Kombinasyonlarının *Oreochromis niloticus* üzerindeki Genotoksik ve Antigenotoksik Etkilerinin Mikronükleus Testi Kullanılarak Araştırılması", **Mersin üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Yüksek Lisans Tezi, Mersin, 11-12 (2007).
35. Güler, Ç. ve Çobanoğlu, Z., " Pestisitler, Çevre Sağlığı Kaynak Dizisi", **İlköz Matbaası**, Ankara, 52: 173 (1997).
36. Casida, J.E., Gammon, D.W., Glickman, A.H. and Lawrence, L.J., "Mechanism of selective action of piretroid insecticides", **Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, 23: 413-438 (1983).
37. Dorman, D.C. and Beasley, R., "Neurotoxicology of pyrethrin and the piretroid insecticides", **Vet. Hum. Toxicol.**, 33(3): 238-43 (1991).
38. Başer, S. Erkoç, F.Ü. Selvi, M. and Koçak, O., Investigation of acute toxicity of permethrin on guppies *Poecilia reticulata*", **Chemosphere**, 51: 469-474 (2003).
39. Demoute, J.P., "A brief review of the environmental fate and metabolism of piretroids", **Pestic. Sci.**, 27: 380-390 (1989).
40. Vural, N., "Toksikoloji", **Ankara Üniversitesi Basımevi**, 73, Ankara, (1996).
41. Demoute, J.P., "A Brief Review of the Environmental Fate and Metabolism of Piretroids", **Pestic. Sci.**, 27: 375-85 (1989).

42. "Who Specifications And Evaluations For Public Health Pesticides", *World Health Organization* Geneva, (2002).
43. Bradbury, S. P.i Coats, J. R., "Comparative toxicology of pyretroid insecticides", *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 108, 133-77 (1989).
44. Srivastav, AK., Srivastava, SK., Srivastav, SK., Impact of Deltametrin on Serum Calcium and Inorganic Phosphate of Freshwater Catfish, *Heteropneustes Fossils*," *Bull. Environ. Contam Toxicol*, 59, 840-846 (1997).
45. Oğur, R., "Toplum tarafından sık olarak tüketilen gıdaların üretiminde kullanılan bazı pestisitlerin nitroza bileşikleri ile oluşturulan meme kanserlerinin gelişime etkisi", Doktora Tezi, *Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Çevre Sağlığı Ana Bilim Dalı*, Ankara, 2006.
46. Kowalczyk-Bronisz, SN., Bubac, B., "Immunological Profile of Animals Exposed to Pesticides-Deltametrin", *Arch. Immunol Ther. Exp.*, 38(3-4), 229-238 (1990).
47. Vijverberg, H. P. M. and Van Den Bercken, J., "Neurotoxicological effects and the mode of action of pyrethroid insecticides", *CRC Rev. Toxicol.* 21: 105-126 (1990).
48. Uğurlu, S., "Samsun İli Tatlı Su Balık Faunasının Tespiti", Doktora Tezi, *On Dokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Samsun, 107-109 (2006).
49. Ekmekçi, F. G. and Kırankaya, S. G., "Distribution of an Invasive Fish Species, *Pseudorasbora parva* (Temminck&Schlegel, 1846) in Turkey," *Turk. J. of Zoology*, 30: 1-6 (2006).
50. Erk'akan, F., "Trakya Bölgesinden Türkiye İçin Yeni Kayıt Olan Bir Balık Türü *Pseudorasbora parva* (Pisces-Cyprinidae)", *Doğa Bilim Dergisi*, 3(8): 350-356 (1984).
51. Sası, H. and Balık, S., "The Distribution of Three Exotic Fishes in Anatolia", *Tr. J. of Zoology*, 27: 319-322 (2003).
52. Golow, A.A. and Godzi, T.A., "Acute toxicity of deltametrin and dieldrin to *Oreochromis niloticus* (LIN)", *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 52: 351-54 (1994).
53. Viran, R., Ünlü Erkoç, F., Polat, H. and Koçak, O., "Investigation of acute toxicity of deltametrin on guppies (*Poecilia reticulata*)", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55: 82-85 (2003).
54. Kumar, S., Latta, S. and Gopal, K., "Deltametrin Induced Physiological Changes in Freshwater Cat Fish *Heteropneustes fossilis*", *Environmental Contamination and Toxicology*, 62: 254-258 (1999).

55. Svobodova, Z., Luskova, V., Drastichova, J., Svoboda, M. and Ilabek, V., "Effect of Deltametrin on Haematological Indices of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.), **Acta Vet. Brno**, 72: 79–85 (2003).
56. Al-Ghanbouis, R., BA-Omar, T. and Victor, R., "Effect of deltametrin on the gills of *Aphanius dispar*: A microscopic study", **Tissue and Cell**, 44: 7-14 (2012).
57. Sharma, K., Ansari, A.B., "Effect of the synthetic pyrethroid Deltametrin and the neem-based pesticide Achook on the reproductive ability of zebrafish, *Danio rerio* (Cyprinidae)", **Arch. Pol. Fish.**, 18: 157-161 (2010).
58. Velisek, J., Jurcik, J., Dobsik, R., Svobodov, Z., Piackov, V., Machov, J. and Novotn, L., "Effects of deltametrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)", **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 23, 297–301(2007).
59. Datta, M., Kaviraj, A., "Acute Toxicity of the Synthetic Pyrethroid Deltametrin to Freshwater Catfish *Clarias gariepinus*", **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, 70: 296–299 (2003).
60. Yildirim, M. Z., Karasu Benli, A. C., Selvi, M., Özkul, A., Erkoç, F. and Koçak, O., "Acute Toxicity, Behavioral Changes, and Histopathological Effects of Deltametrin on Tissues (Gills, Liver, Brain, Spleen, Kidney, Muscle, Skin) of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) Fingerlings", **Environmental Toxicology**, 2006.
61. Sayeed, I., Parvez, S., Pandey, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R. and Raisuddin, S., "Oxidative stress biomarkers of exposure to deltametrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch", **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 56: 295–301 (2003).
62. Kan, Y., Cengiz, E. İ., Uğurlu, P. and Yanar, M., "The protective role of vitamin E on gill and liver tissue histopathology and micronucleus frequencies in peripheral erythrocytes of *Oreochromis niloticus* exposed to deltametrin", **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 34: 170-179 (2012).
63. Köprücü, K. and Aydın, R., "The toxic effects of pyrethroid deltametrin on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae", **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 80: 47-53 (2004).
64. Ansari, R. A., Kaur, M., Ahmad, F., Rahman, S., Rashid, H., Islam, F. and Raisuddin, S., "Genotoxic and oxidative stress-inducing effects of deltametrin in the erythrocytes of a freshwater biomarker fish species, *Channa punctata*, Bloch", **Environmental Toxicology**, 24: 429-436 (2009).

65. Amin, K. A. and Hashem, K. S., "Deltametrin-induced oxidative stress and biochemical changes in tissues and blood of catfish (*Clarias gariepinus*): antioxidant defense and role of alpha-tocopherol", **BMC Veterinary Research**, 2012.
66. Çalta, M. and Ural, M. Ş., "Acute Toxicity Of The Synthetic Pyrethroid Deltametrin To Young Mirror Carp, *Cyprinus carpio*", **Fresenius Environmental Bulletin**, 13 (11a): 1179-1183 (2004).
67. Verep, B., "A Research on the Sensitivity of European Chub to Some Pesticides", **Fresenius Environ. Bull.**, 15(12A): 1517-1520 (2006).
68. Ural, M.S., and Saglam N., "A Study on the Acute Toxicity of Pyrethroid Deltametrin on the Fry Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792)", **Pestic. Biochem. Physiol.**, 83(2-3): 124-131 (2005).
69. Anonymus., "Revised report on fish toxicity testing procedures", **EIFAC Technical Paper**, 24 (1983).
70. U.S. EPA, "EPA probit analysis program, version 1.5.", **Ecological Monitoring Research Division, Environmental Monitoring Systems Laboratory**, Cincinnati, (1992).
71. Klaassen, C. D., "Principles of toxicology" **The Pharmacological Basis of Therapeutics, third ed. Pergamon Press**, 49-61 (1990).
72. 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).
73. Elçin, A. E., Erkoç, F., Sarıkaya R., Selvi, M., Atik, A.D., Öztekin, M. *Molekülerden Hücreye Dokudan Fizyolojiye Biyoloji Deneyleri*. Editörler A.E. Elçin ve F. Erkoç. **Palme Yayıncılık**, Ankara, 38-62 (2010).
74. Carrasco, K.R., Tilbury, K.L. ve Myers, M.S. "An assessment of the piscine micronucleus test as an in-situ biological indicator of chemical contaminant effects", **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 47: 2723-2136, (1990).

75. Çavaş, T. “Endüstriyel Atıkların Genotoksik Etkilerinin Mikronükleus ve AgNOR Analiz Teknikleri Kullanılarak İn-Situ ve Laboratuvar Koşulları Altında Araştırılması”, Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi **Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı**, Mersin, (2004).
76. İnternet: U.S. Enviromental Protection Agency (EPA), <http://cfpub.epa.gov/ecotox/report.cfm?type=short>
77. Ravinder,V., Babu, B.R. and Narayana, G., “Decis Toxicity Study on Lactate Dehydrogenase Isozymes of a Fresh Water Cat Fish *Clarias batrachus* (Linnaeus)”, **J. Environ. Biol.**, 10(2): 217-225 (1989).
78. Rathnamma,V.V., Vijayakumar, M. and Philip, G.H., “Effect of Deltametrin on Pyruvate and Lactate of Freshwater Fish *Labeo rohita*”, **J. Ecotoxicol. Environ. Monit.**, 19(2): 129-134 (2009).
79. Mayer, f.l. and Ellersieck, M. R., “Manual of acute toxicity: Interpretation and data bas efor 410 chemicals and 66 species of freshwater animals”, **Washington US Department of Interior, Fish and Wildlife Service**, Washinfon, 506 (1986).
80. Li,H., Jiang, H., Gao, X., Wang, X., Qu, W., Lin, R. and Chen J., “Acute Toxicity of the Pesticide Methomyl on the Topmouth Gudgeon (*Pseudorasbora parva*): Mortality and Effects on Four Biomarkers”, **Fish Physiol. Biochem.**,34(3): 209-216 (2008).
81. Yılayaz, Ö., “Chlorpyrifos Ethyl (Pestisit;İnsektisit)’in *Capoeta trutta* (Heckel,1843) Üzerindeki Genotoksik Etkisinin Eritrosit Mikronükleus Testi ile Belirlenmesi”, **Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları Der.**, 6(2): 70-74 (2008).
82. Çavaş, T. and Gözü kara Ergene, S., “Evaluation of the genotoxic potential of lambda-cyhalothrin using nuclear and nucleolar biomarkers on fish cells”, **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, 534: 93-99 (2003).
83. Selvi, M., Çavaş, T., Karasu Benli, A. Ç., Koçak Memmi, B., Çinkılıç, N., Sepici Dinçel, A., Vatan, Ö., Yılmaz, D., Sarıkaya, R., Zorlu, T. and Erkoç, F., “Sublethal toxicity of esbiothrin relationship with total antioxidant status and in vivo genotoxicity assessment in fish (*Cyprinus carpio* L., 1758) using the micronucleus test and comet assay”, **Environmental Toxicology**, 2011.

84. Yılayaz, Ö., “Parathion Methyl (İnsektisit)’in *Barbus rajanorum mystaceus* (Heckel,1843) Üzerindeki Genotoksik Etkisinin Eritrosit Mikronükleus Testi ile Belirlenmesi”, ***Doğu Anadolu Böl. Araştırmaları Der.***, 4 (1): 72-76 (2005).
85. Neuparth, T., Bickham, W., Theodorakis, W., Costa, F.O. and Costal, M.H. “Endosulfan-Induced Genotoxicity Detected in the Gilthead Seabream, *Sparus aurata* L., by Means of Flow Cytometry and Micronuclei Assays”, ***Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology***, 76: 242-248 (2006).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : DÜZEL, Sezin
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 28.10.1987, Ankara
Medeni hali : Bekar
Telefon : 0 (312) 221 32 14
e-mail : sezinduzel@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	Gazi Üniversitesi /Biyoloji Eğitimi ABD	2011
Lise	Bahçelievler Deneme Lisesi	2004

Yabancı Dil

İngilizce

Hobiler

Fotoğrafçılık, Doğa yürüyüşü