

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

**ZEBRA BALIKLARINDA ABAMEKTİN ÜREME TOKSİSİTESİ:
HİSTOLOJİK YÖNDEN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sevda BAĞDATLI

Biyoloji Anabilim Dalı

Haziran-2024

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

**ZEBRA BALIKLARINDA ABAMEKTİN ÜREME TOKSİSİTESİ:
HİSTOLOJİK YÖNDEN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sevda BAĞDATLI

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nazan Deniz YÖN ERTUĞ

Haziran-2024

Sevda BAĞDATLI tarafından hazırlanan “ZEBRA BALIKLARINDA ABAMEKTİN ÜREME TOKSİSİTESİ: HİSTOLOJİK YÖNDEN İNCELENMESİ ” adlı tez çalışması 16.06.2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Jüri Başkanı :

Jüri Üyesi :

Jüri Üyesi :

Jüri Üyesi :
(Gerekliyse)

Jüri Üyesi :
(Gerekliyse)



ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğine ve Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesine uygun olarak hazırlamış olduğum “ZEBRA BALIKLARINDA ABAMEKTİN ÜREME TOKSİSİTESİ: HİSTOLOJİK YÖNDEN İNCELENMESİ” başlıklı tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın tüm aşamalarında yukarıda belirtilen yönetmelik ve yönergeye uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, bu tezi başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve 20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince Sakarya Üniversitesi’nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Enstitü tarafından belirlenmiş ölçütlere uygun rapor alındığını, etik kurul onay belgesi aldığımı, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun ortaya çıkması halinde doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi beyan ederim.

(...../...../20.....).

(imza)

Sevda BAĞDATLI





*Yaşadıkları tüm zorluklara rağmen kızlarını okutmaktan vazgeçmeyen
Anne ve Babama ithafen...*



TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yürütülmesi sırasında desteğini ve yardımını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Nazan Deniz YÖN ERTUĞ' a, çalışma sürecim boyunca akademik katkılarından dolayı Biyoloji Bölüm Başkanı hocam Prof. Dr. Hüseyin AKSOY'a, tez çalışmalarım süresince yardımcı olan meslektaşım Arş. Gör. Dr. Tarık DİNÇ'e ve Biyoloji Bölümü Öğretim Üyelerine, ekip arkadaşlarım Şevval KOÇAK ve Muhammed CANİK'e, teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın deneysel bölümünü yapma imkanı sunan İstanbul Üniversitesi Sucul Omurgalı Canlı Deney Ünitesi (İUSUCAN) çalışanlarına ve Prof. Dr. Devrim MEMİŞ'e teşekkürü borç bilirim.

Ayrıca, tez çalışmalarım boyunca bana destek ve yardımcı olan sevgili eşim Güray BAĞDATLI'ya ve tüm eğitim hayatım boyunca verdikleri destek için annem, babam ve kardeşlerime minnettarım.

Sevda BAĞDATLI



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	v
TEŞEKKÜR	ix
İÇİNDEKİLER	xi
KISALTMALAR	xiii
SİMGELER	xv
TABLO LİSTESİ	xvii
ŞEKİL LİSTESİ	xix
ÖZET	xxii
SUMMARY	xxiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Zebra Balığının Morfolojisi	3
2.2. Model Organizma Olarak Zebra Balığının Avantajları	3
2.3. Zebra Balıklarında Gonad Gelişim Süreci	4
2.4. Zebra Balığı Ovaryum Histolojisi	5
2.4.1. Primer oosit	6
2.4.2. Kortikal alveolar oosit	7
2.4.3. Vitellojenik oosit	8
2.4.4. Olgun oosit	8
2.4.5. Atretik oosit	9
2.5. Zebra Balığı Testis Histolojisi	10
2.6. Pestisitler	133
2.6.1. Pestisitlerin sınıflandırılması	143
2.7. İnsektisitler	154
2.7.1. Abamektin	165
3. MATERYAL VE METOD	199
3.1. Materyal	199
3.1.1. Zebra balığı (<i>Danio rerio</i>)	199
3.1.2. Ortam koşulları	199
3.1.3. Zebra balıklarına abamektin uygulaması ve doku eldesi	199
3.2. Metod	20
3.2.1. Histolojik İşlemler	20
3.2.1.1. Fiksasyon	20
3.2.1.2. Dehidrasyon	21
3.2.1.3. Şeffaflaştırma ve parafinden geçirme	21
3.2.1.4. Kesit alma	22
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	25
4.1. Histolojik Analizler	25
4.1.1. Zebra balığı testis dokusu	25
4.1.1.1. Kontrol grubu	25
4.1.1.2. 0,75 µg L ⁻¹ Abamektin'e maruz kalan testis dokusu	26

4.1.1.3. 1,5 µg L ⁻¹ Abamektin'e maruz kalan testis dokusu.....	29
4.1.1.4. 3 µg L ⁻¹ Abamektin'e maruz kalan testis dokusu.....	32
4.1.2. Zebra balığı ovaryum dokusu.....	30
4.1.2.1. Kontrol grubu	30
4.1.2.2. 0,75 µg L ⁻¹ Abamektin'e maruz kalan ovaryum dokusu.....	32
4.1.2.3. 1,5 µg L ⁻¹ Abamektin'e maruz kalan ovaryum dokusu.....	34
4.1.2.4. 3 µg L ⁻¹ Abamektin'e maruz kalan ovaryum dokusu.....	35
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	43
KAYNAKLAR.....	51
ÖZGEÇMİŞ.....	59



KISALTMALAR

DDT	: Diklorodifeniltrikloroetan
GABA	: Gama-aminobutirik Asit
LC50	: %50 Öldürücü Konsantrasyon
LD50	: %50 Öldürücü Doz
H&E	: Hematoksilen & Eozin
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
PCA	: Fenazin -1- Karboksilik Asit
ENU	: N-Nitrozo- N – Etilüre
ZPT	: Zinc Pyrithione
E2	: 17 β - Estradiol
PPM	: Milyonda Bir Birim
PO	: Primer Oosit
CAO	: Kortikal Alveolar Oosit
VO	: Vitellojenik Oosit
OO	: Olgun Oosit
AO	: Atretik Oosit
AO*	: İleri Evrede Atretik Oosit
Ca	: Kortikal Alveol
Ç	: Çekirkek
Çk	: Çekirdekcik
Fe	: Foliküler Epitel
ZR	: Zona Radiata
SG	: Spermatogonyum
PS	: Primer Spermatosit
SK	: Sekonder Spermatosit
ST	: Spermatid
S	: Sperm
L	: Leydig Hücresi
Sr	: Sertoli Hücresi



SİMGELER

µg	: Mikrogram
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
kg	: Kilogram
g	: Gram
g.mol⁻¹	: Gram/mol
µg/L⁻¹	: Mikrogram/Litre
L	: Litre
µm	: Mikrometre
cm	: Santimetre
°C	:Santigrat



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1. Fiksasyon (Tespit) Uygulaması.	20
Tablo 3.2. Dehidrasyon Uygulaması.	21
Tablo 3.3. Hematoksilen Eozin Boyama Prosedürü.....	22





ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Yetişkin Zebra Balığı (Danio rerio).....	3
Şekil 2.2. Primer Oosit (PO) (x40 büyütme, H&E).....	6
Şekil 2.3. Kortikal Alveolar Oosit (x40 Büyütme, H&E).	7
Şekil 2.4. Vitellojenik Oosit (x40 Büyütme, H&E).....	7
Şekil 2.5. Olgun Oosit (x40 Büyütme, H&E).	8
Şekil 2.6. Atretik Oosit (x40 Büyütme, H&E).	9
Şekil 2.7. Kontrol Grubu Genel Testis Dokusu Görünümü.	10
Şekil 2.8. Spermatogonyum (x100 Büyütme, H&E).	11
Şekil 2.9. Primer Spermatozit (x100 Büyütme, H&E).....	11
Şekil 2.10. Sekonder Spermatozit (x100 Büyütme, H&E)	12
Şekil 2.11. Spermatid (x100 Büyütme, H&E).....	12
Şekil 2.12. Sperm. (x100 Büyütme, H&E).....	12
Şekil 2.13. Leydig Hücresi. (x100 Büyütme, H&E).....	13
Şekil 2.14. Sertoli Hücresi. (x100 Büyütme, H&E)	13
Şekil 2.15. Pestisitlerin Sınıflandırılması.	15
Şekil 2.16. Abamektin'in Fizikokimyasal Özellikleri.	16
Şekil 3.1. Dokuları Parafin Bloklara Gömme İşlemi.	21
Şekil 3.2. Kesit Alma İşlemi.	22
Şekil 3.3. Boyama İşlemi.	23
Şekil 4.1. Zebra Balığı Kontrol Grubu Testis Dokusu.	26
Şekil 4.2. Seminifer Tübül Genel Yapısı.	26
Şekil 4.3. 0,75 µg L ⁻¹ Abamektin Uygulanan Testis Dokusu.	27
Şekil 4.4. 0,75 µg L ⁻¹ Abamektin Uygulanan Testis Dokusu.	28
Şekil 4.5. 0,75 µg L ⁻¹ Abamektin Uygulanan Testis Dokusu.	28
Şekil 4.6. 0,75 µg L ⁻¹ Abamektin Uygulanan Testis Dokusu.	29
Şekil 4.7. 0,75 µg L ⁻¹ Abamektin uygulanan testis dokusu, Seminifer Tübüllerde Gözlenen Genel Atrofi.	29
Şekil 4.8. 1,5 µg L ⁻¹ Abamektin Uygulanan Testis Dokusu.	30
Şekil 4.9. 1,5 µg L ⁻¹ Abamektin Uygulanan Testis Dokusu.	31
Şekil 4.10. Seminifer Tübüllerde İlerleyen Atrofi.	31
Şekil 4.11. Seminifer Tübül Yapısında Bozulma.	32
Şekil 4.12. 3 µg L ⁻¹ Dozda Testis Dokusu Genel Görünüm.	33
Şekil 4.13. Testis Dokusunda İleri Düzeyde Atrofik Görünüm.....	33
Şekil 4.14. Atrofik Görünümlü Testis Dokusu.	34
Şekil 4.15. Zebra Balığı Ovaryum Dokusu Kontrol Grubu.	35
Şekil 4.16. Kontrol Ovaryum Primer Oosit. (x100 büyütme, H&E).	35
Şekil 4.17. Kontrol Grubu (x100 Büyütme, H&E).....	36
Şekil 4.18. Kontrol Grubu (x100 Büyütme, H&E).....	36
Şekil 4.19. 0,75 µg L ⁻¹ Abamektin Uygulanan Ovaryum Dokusu.	37
Şekil 4.20. 0,75 µg L ⁻¹ Abamektin Uygulanan Ovaryum Dokusu.	38
Şekil 4.21. 0,75 µg L ⁻¹ Abamektin Uygulanan Ovaryum Dokusu.	38

Şekil 4.22. 0,75 µg L ⁻¹ Abamektin Uygulanan Ovaryum Dokusu.....	39
Şekil 4.23. 1.5 µg L ⁻¹ Abamektin Uygulanan Ovaryum Dokusu.....	40
Şekil 4.24. 1.5 µg L ⁻¹ Abamektin Uygulanan Ovaryum Dokusu.....	40
Şekil 4.25. 1.5 µg L ⁻¹ Abamektin Uygulanan Ovaryum Dokusu.....	41
Şekil 4.26. 1.5 µg L ⁻¹ Abamektin Uygulanan Ovaryum Dokusu.....	41
Şekil 4.27. 3 µg L ⁻¹ Abamektin Uygulanan Ovaryum Dokusu.....	42
Şekil 4.28. 3 µg L ⁻¹ Abamektin Uygulanan Ovaryum Dokusu.....	43
Şekil 4.29. 3 µg L ⁻¹ Abamektin Uygulanan Ovaryum Dokusu.....	43
Şekil 4.30. 3 µg L ⁻¹ Abamektin Uygulanan Ovaryum Dokusu.....	44



ZEBRA BALIKLARINDA ABAMEKTİN ÜREME TOKSİSİTESİ: HİSTOLOJİK YÖNDEN İNCELENMESİ

ÖZET

Günümüzde çevre sorunlarının artmasında kimyasal atık ve pestisitlerin günlük hayatımıza fazlasıyla entegre olması büyük bir etkindir. Özellikle pestisitler, tarımsal arazilerde ürün eldesinde alınan verimin artırılması amacıyla kullanılmaktadır. Her ne kadar üründe kaliteyi arttırmak amacıyla kullanılsa da; pestisitlerin kullanımı arttıkça çeşitli yollarla toprak ve suya karışımı da artmaktadır. Böceklerin kontrolü ve verdiği zararın azaltılması için kullanılan insektisitler de bu alanda kullanımı artan pestisitlerdir.

Avermektin ailesinden en sık kullanılan bileşenlerden olan Abamektin de bir insektisit ve antihelmintik ajan olarak tarım alanlarında kullanılmaktadır. Bu bileşik, uygulama bölgelerinden farklı yollarla sucul ortama girip kirletici rolü ile canlılar üzerinde olumsuz etkiler gösterebilmektedir. Abamektin maruziyeti sonrasında zehirlenme, koma, hipotansiyon ve solunum yetmezliğine sebep olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Ayrıca sucul ortama karışması sonucunda akuatik organizmalarda da toksik etki gösterdiği bilinmektedir. Abamektinin üreme toksisitesine sebep olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur. Günümüze model organizma olarak tercih edilen zebra balıklarında kimyasalların oluşturduğu toksisite çalışmalarına dayanarak, insanlar üzerindeki olası etkileri de değerlendirilmektedir.

Bu çalışmada, değişen dozları kullanılan Abamektin'in (0,75 µg L⁻¹, 1,5 µg L⁻¹ ve 3 µg L⁻¹) zebra balıklarına uygulanması sonucunda ovaryum ve testis dokuları disekte edilerek histolojik işlemlerden geçirilmiştir. Hematoksilen & Eozin boyaması sonrasında ışık mikroskobu altında incelemeler yapılmış ve histopatolojik etkiler tespit edilmiştir.

Abamektin uygulaması sonrasında zebra balığı testis dokularında seminifer tübüller arası bölgede bağ doku artışı (intertisyel fibrosis), seminifer tübüllerde vakualizasyon, seminifer tübül bütünlüğünde bozulma, sperm yoğunluğunda artış, spermatogenik hücre kümelerinde azalış, Sertoli hücrelerinde hipertrofi, piknotik hücre yapıları, apoptotik hücre oluşumu, intertisyel alanda hemoraji ve testis dokusunda ileri seviyede atrofi tespit edilmiştir.

Ovaryum dokularında ise; zona radiata ile ooplazma ve zona radiata ile foliküler epitel arasında açılma, zona radiatada distorsiyon, morfolojik bozulmalar ve kalınlaşma, atretik oosit oluşumunda artış, intertisyel alanda fibrosis, ooplazmada vakualizasyon ve dejenere olmuş folikül oluşumu, olgun ve vitellojenik oosit sayısında azalış ve hücrelerde nükleer alanda bozulmaların meydana geldiği görülmüştür. Ayrıca tüm bu görülen bulguların doz artışı ile paralel olarak artış gösterdiği belirlenmiştir.



REPRODUCTIVE TOXICITY OF ABAMECTIN IN ZEBRAFISH: A HISTOLOGICAL EXAMINATION

SUMMARY

In today's world, the increase in environmental problems is significantly influenced by the extensive integration of chemical waste and pesticides into our daily lives. Pesticides are particularly used in agricultural fields to increase crop yields. The use of pesticides involves chemical substances aimed at eliminating pests and preventing unwanted weed growth; therefore, they can be harmful to other species such as non-target plants, birds, fish, beneficial insects, and also negatively affect the atmosphere, water sources, soil fertility, and agricultural products. Pesticides can reach soils and both surface and groundwater through various means such as wind and rainwater or drift.

Pesticides can be categorized based on numerous parameters such as appearance, physical or chemical structure, toxicity levels, target areas, or how they are applied; however, classification based on the active ingredient and target area is much more commonly used. This classification includes rodenticides, insecticides, acaricides, fungicides, herbicides, molluscicides, virucides, bactericides, and nematocides. The ability to categorize pesticides in various ways allows their use while considering their risks, thereby protecting foods or providing high-quality products. This way, the excessive and uncontrolled use of pesticides can be prevented, minimizing the toxic effects by reducing the exposure of living beings to these substances during their use.

Although pesticides are used to improve product quality, their mixing with soil and water increases as their use increases. Insecticides, used to control insects and reduce the damage they cause, are also among the pesticides with increasing usage in this field. Defined as chemical or biological origin substances that control insects, insecticides act by killing, eliminating, or preventing the harmful behaviors of insects.

Members of the avermectin family are categorized as highly effective but toxic natural substances used as medications in humans and animals and for plant protection. One of the most commonly used components of the avermectin family is Abamectin, used in agricultural fields as an insecticide and antihelminthic agent. Abamectin (80% Avermectin B1a (5-O-demethyl Avermectin A1a) and 20% Avermectin B1b (5-O-dimethyl-25-de-(1-methylpropyl)-25-(1-methylethyl) (ABM)) is a macrocyclic lactone disaccharide compound and results from the natural fermentation of the soil actinomycete *S. avermitilis*. This compound, by entering aquatic environments through various pathways from application areas, can act as a pollutant and show adverse effects on living organisms. Studies have shown that exposure to Abamectin can lead to poisoning, coma, hypotension, and respiratory failure. Furthermore, it is known to exhibit toxic effects on aquatic organisms when it contaminates aquatic environments. Studies have also shown that Abamectin can cause reproductive toxicity.

Zebrafish are organisms that can tolerate a wide range of temperatures. They can survive without problems at temperatures ranging from 18 to 30°C. Reproduction is quite a simple process for zebrafish. The optimal breeding temperature is 26-28°C. At the end of a 12-hour light and 12-hour dark period, each adult female fish lays approximately 50-80 eggs, which are then fertilized by males.

Based on studies on the toxicity caused by chemicals in zebrafish, which are currently preferred as model organisms, the potential effects on humans are also evaluated. Zebrafish are also used as genetic models in aquaculture, toxicogenomic studies, and drug development for humans. With their easy maintenance, production, and transparent appearance during early development stages, zebrafish stand out as versatile model organisms suitable for many different research fields.

Especially in the last twenty years, zebrafish have been preferred as model organisms to examine the reproductive toxicity caused by drugs and chemicals in both short and long terms. The reproductive organs of bony fish, such as zebrafish, develop bilaterally from germinal ridges originating from the dorsolateral lining of the peritoneal cavity. Germ cells migrate from these ridges to the germinal epithelium and settle in the developing ovary. It is known that oogenesis in zebrafish consists of four main stages based on ultrastructural analysis: primary oocyte, cortical alveolar oocyte, vitellogenic oocyte, and mature oocyte. The testis in fish is an organ located bilaterally between the abdominal wall and the swim bladder. Histological examination of testis tissue reveals seminiferous tubules, testicular ducts, connective tissue, cells in various stages of spermatogenesis, and Leydig cells. The cells involved in spermatogenesis include spermatogonia, primary spermatocytes, secondary spermatocytes, spermatids, and sperm cells. Spermatogonia, primary and secondary spermatocytes, and spermatids are located at the base of the seminiferous tubules, while sperm cells are found in the lumen. Additionally, Leydig cells are present in the connective tissue between the seminiferous tubules. The reproductive cells in spermatogenesis obtain nutrition, support, and hormonal interactions through Sertoli cells. Sertoli cells are located in the seminiferous tubule walls, settled on the basal membrane, and surround the reproductive cells, filling the space between them.

In this study, adult zebrafish were used as live material. A total of 40 zebrafish, with 5 males and 5 females in each of the 4 aquariums, were used. Heaters were used to maintain the water temperature at $28 \pm 1^\circ\text{C}$ in the aquariums. The aquarium water was oxygenated using air pumps, and no filtration system was used in the aquariums. Additionally, an automatic lighting system was installed in the room, maintaining a cycle of 14 hours of light and 10 hours of dark. While no treatment was applied to the control group aquarium, Abamectin was added to the other experimental groups' aquariums at doses of $0.75 \mu\text{g L}^{-1}$, $1.5 \mu\text{g L}^{-1}$, and $3 \mu\text{g L}^{-1}$. After 96 hours of exposure, the fish were euthanized using a high dose of anesthetic (MS-222, 300 mg/L). Following this procedure, the ovary and testis tissues were dissected.

The ovary and testis tissues were fixed in Bouin's solution, dehydrated by passing through ascending ethanol series, and then cleared using xylene before being embedded in paraffin blocks. Sections of $5 \mu\text{m}$ thickness were taken using a Leica microtome, followed by staining. The tissues were stained using Hematoxylin and Eosin (H&E) and examined with a Leica light microscope.

Histological examination of the zebrafish control group testis tissue showed seminiferous tubules surrounded by seminiferous epithelium. In the interstitial area between the seminiferous tubules, oval nuclei, round-shaped interstitial cells known

as Leydig cells, responsible for androgen synthesis, were observed. Following Abamectin application, interstitial fibrosis (connective tissue increase) in the interstitial area of the zebrafish testis tissues, vacuolization in the seminiferous tubules, disruption of seminiferous tubule integrity, increased sperm density, decreased spermatogenic cell clusters, hypertrophy in Sertoli cells, pyknotic cell structures, apoptotic cell formation, hemorrhage in the interstitial area, and severe atrophy in testis tissue were detected.

Hematoxylin and Eosin (H&E) staining results showed that the ovarian tissue of the zebrafish control group exhibited normal histological structure. Different developmental stages of oocytes, such as primary oocytes, cortical alveolar oocytes, vitellogenic oocytes, and mature oocytes, were identified in the control group. In the tissues exposed to Abamectin, separation between the zona radiata and ooplasm, and between the zona radiata and follicular epithelium, distortion in the zona radiata, morphological disruptions and thickening, increased formation of atretic oocytes, fibrosis in the interstitial area, vacuolization in the ooplasm, formation of degenerated follicles, decreased numbers of mature and vitellogenic oocytes, and nuclear area disruptions in the cells were observed. Moreover, all these findings were found to increase in parallel with the dose increase.



1. GİRİŞ

Zebra balığı, tıp ve biyoloji alanında yapılan araştırmalarda yaygın olarak kullanılan omurgalı model organizmalardan biridir. Çevresel koşullara karşı yüksek dayanıklılık göstermeleri, zebra balıklarını yoğun stres testleri için ideal denekler haline getirmektedir. Laboratuvar ortamındaki teknoloji dahilinde daha kolay çalışılan bir tür olan zebra balıkları, omurgalı canlılar için yapılan toksikolojik araştırmalarda uzun süredir model organizma olarak tercih edilmektedir.

Zirai ürünlerde verim artışını sağlamak amacıyla kullanılan pestisitler; hedef organizmalardan kurtulup üründe kaliteyi arttırsa da, tarımsal alana ve hedef olmayan canlı türlerine zarar verebilmektedir. Avermectin sınıfından bir insektisit ve antihelmintik ajan olan abamektin, böcek ve akarlara karşı yoğun olarak kullanılan bir tarım ilacıdır. Kullanıldığı çevre göz önünde bulundurulduğunda, birçok canlı üzerindeki etkisini araştıran çalışmalar mevcuttur.

Gonadlar, erkek ve dişide cinsiyeti tayin eden temel organlar olup sperm ve yumurta üretiminin yanında cinse özgü hormonların da salgılanmasını sağlayan yapılardır. Abamektinin sucul ortamlarda, özellikle balıklar için toksisitesinin yüksek olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada, Abamektinin zebra balığında üreme hücreleri üzerindeki (histolojik olarak) etkisi incelenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Zebra Balığının Morfolojisi

Zebra balığının (*Danio rerio*) vücutu (Şekil 2.1.), ardışık koyu mavi ve gümüş beyazı şeritlere sahip, hassas bir yapıdadır. Dişilerin, erkeklerden daha büyük ve daha belirgin karın hatları bulunur. Yetişkinlikte, boy uzunlukları yaklaşık 5 cm'ye ulaşır (Koc, 2008). Optimal şartlar altında zebra balıkları 5 yıl kadar ömür sürebilirler (Gerhard ve ark., 2002). Dişi bireyler, erkeklere kıyasla daha büyük yapıları ve göbek bölgesinin dolgunluğu ile kolaylıkla fark edilirler. Erkek bireyler ise, daha düz bir forma sahiptirler. Dişi bireylerle karşılaştırıldığında, erkeklerin anal yüzgeçleri daha sarı bir tona sahiptir (Avdesh ve ark., 2012).



Şekil 2.1. Yetişkin Zebra Balığı (*Danio rerio*)

Zebra balıkları geniş sıcaklık aralıklarına tolerans gösterebilen canlı gruplarıdır (Lawrence, 2007), 18 ila 30 °C arasında değişen sıcaklıklarda sorunsuz bir şekilde hayatta kalabilirler. Üreme, zebra balıkları için oldukça basit bir süreçtir. Optimal üreme sıcaklığı 26-28 °C'dir. 12 saatlik aydınlık ve 12 saatlik karanlık ışık periyodu sonunda, her yetişkin dişi balık yaklaşık 50-80 yumurta bırakır ve bu yumurtalar daha sonra erkekler tarafından döllenir (Akbulut, 2012).

2.2. Model Organizma Olarak Zebra Balığının Avantajları

Model organizma olarak kullanılan hayvan türleri, özel biyolojik işlemleri ve canlılardaki düzenin nasıl çalıştığına dair süreci anlamamız için kullanılmaktadır. Model canlılar içinde, zebra balığı özellikle gelişim biyolojisi, kanser araştırmaları, toksikoloji, ilaç geliştirme ve moleküler biyoloji gibi alanlarda öncü modellerden biri

haline gelmiştir (Langheinrich ve ark., 2022). Zebra balığı aynı zamanda, su ürünleri yetiştiriciliğinde genetik model olarak, toksikogenomik çalışmalarda ve insanlar için ilaç geliştirilmesi alanlarında da kullanılmaktadır. Kolay bakımı, üretimi ve erken gelişim evrelerindeki şeffaf görüntüsü ile, birçok farklı araştırma dalı için uygun, çok yönlü bir model organizma olarak öne çıkmaktadır (Khan ve Alhewairini, 2018).

Zebra balıkları, model organizma olarak tercih edilmelerinin sebepleri arasında kısa yaşam süreleri, yüksek üreme kapasiteleri, yetiştirilmesinin kolay olması ve maliyetlerinin düşük olması gibi avantajlar da bulunmaktadır (Hou, 2023). Özellikle gelişimsel biyoloji alanında yaygın olarak kullanılan bir model organizma olan zebra balığı, üretiminin de kolay olması bu alanda popülerliğinin artmasını sağlamaktadır. Laboratuvar ortamında, zebra balıkları yıl boyunca üremeye teşvik edilebilir ve döllenmiş yumurtadan üreme aşamasına kadar olan gelişim süresi yaklaşık 3-4 ay sürer. Üç aylık kısa üreme döngüleri, bu balıkları genetik çalışmalar için ideal bir aday haline getirirken, mutajenlere, karsinojenlere, teratojenlere ve toksinlere karşı hassasiyetleri, çevresel bir model olarak kullanımını da avantajlı hale getirir (Koc, 2009).

Özellikle son yirmi yıldır, ilaç ve kimyasalların kısa ve uzun dönem içinde neden olduğu üreme toksisitesini incelemek amacı ile zebra balığı bir model organizma olarak tercih edilmektedir.

2.3. Zebra Balıklarında Gonad Gelişim Süreci

Omurgalı hayvanlarda gonad gelişimi başlangıcı ortak embriyonik dokudan gelir. Cinsiyetin belirlenmesi, gonadlardan testis ya da ovaryum farklılaşması olarak tanımlanabilir (Lucas- Herald ve Bashamboo, 2014). Zebra balıklarında da diğer omurgalılarda olduğu gibi gonad, önce ovaryum benzeri bir yapı olarak gelişir. Erken oosit yapısı, döllenmeyi takip eden ilk 10 gün sonunda tüm gonadlarda bulunabilir. Klasik mitoz aktiviteleri döllenme sonrası 15 gün sonuna kadar görülmez, bu dönemde erken ovaryum yapısı gözlenebilir ve bu durum oogenez sürecine gider (Uchida ve ark., 2002, Okuthe ve ark., 2014). Zebra balıklarında cinsiyet farklılaşması döllenme sonrası 17. Gün sonunda meydana gelen perinükleer oosit görünümü ile gözlenir. İki farklılaşma döllenme sonrası 21. Günde gonadlarda görülür ve bazı gonadlarda mayoz (döllenme sonrası 22. Gün) başlar. 22. Günde genç ovaryum yapında bir şekilde oogenezde ilerlerken, diğer yarısında apoptoz başlatılır ve bunlar testis oluşum

sürecine girer (Pradhan ve ark., 2012). 31. Günde gonadlar, ovaryumdaki perinükleer oositler, olgun oositler, apoptoza uğrayan oositler ve gelişen spermatogoniyal kistleri barındıran testisi de bulundurur. 40. Güne gelindiğinde dişi gonadlarda oogenezin devam ettiğini gösteren germ hücreleri gözlenirken, geri kalan kısımda dejenere olmuş oositler bulunur ve bu durum spermatogenik aktivitenin başlangıcı olarak kabul edilir (Shive ve ark., 2010). Zebra balıkları seksüel gelişiminde farklı çevresel faktörlerden de etkilenebilir. Fakat, doğal döngü içerisinde çevresel faktörlerin etki göstermediği, bir kısım balıkta sadece genotipe bağlı değişim olduğu belirlenmiştir (Ospina- Alvares ve Piferrer, 2008).

2.4. Zebra Balığı Ovaryum Histolojisi

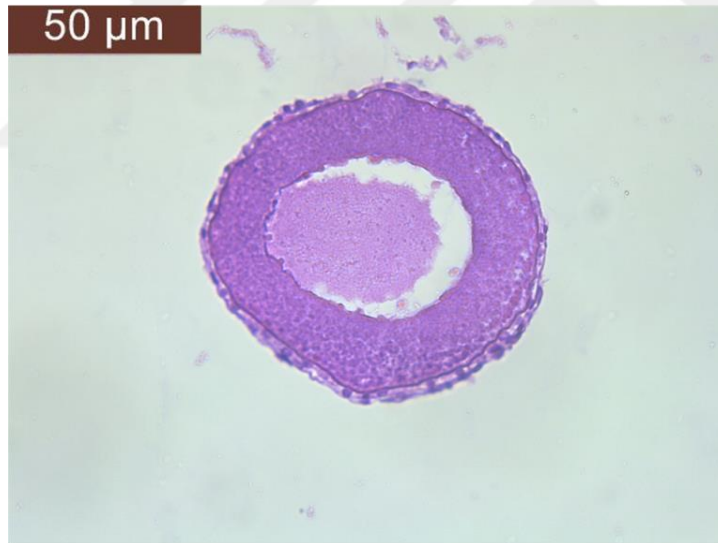
Ovaryumlar, çift halinde bulunan yapısal bileşenlerdir, karın duvarı ve yüzgeç kesesi arasında bilateral olarak konumlanır. Histolojik analiz, genellikle farklı gelişim evrelerindeki yumurtaları açığa çıkarır. Kısa bir ovidukt, yumurtaları dışarıya taşır (Wang ve Ge 2004). Zebra Balıkları gibi kemikli balıkların üreme organları, periton boşluğunun dorsolateral astarından köken alan germinal çıkıntılardan bilateral olarak gelişir. Germ hücreleri, bu çıkıntılardan germinal epitele doğru göç eder ve oluşmakta olan ovaryuma yerleşirler (Connaughton ve Aida, 1999). Diğer balık türlerine benzer şekilde, zebra balığı folikülleri, vitellin zarı olarak da bilinen zona radiata ile çevrili büyük bir oosit ve iç granüloza hücrelerinden meydana gelen bir iç tabaka ile dış teka hücrelerinden oluşan bir foliküler tabakaya sahiptir (Clelland ve Peng, 2009).

Zebra balıklarında oogenezin, ultrastrüktürel analiz baz alınarak dört ana aşamadan oluştuğu bilinmektedir (Selman ve ark., 1993, Aytekin ve ark., 2008). İlk evrede oosit çapı ortalama 7–140 µm kadardır ve boyutun arttığı gözlenir. Mayozun başlamasından, durdurulan mayozun profazına kadar (mayoz I) olan erken oosit gelişim evreleri bu aşamada gerçekleşir. İkinci evrede oosit çapı ortalama 140–340 µm'dir. Koryon oluşumu ve kortikal granüllerin üretildiği evre bu evredir. Üçüncü evrede oosit çapı 340–690 µm kadardır. Bu aşamada vitellogenin proteininin birikimi olur ve vitellojenik evre olarak bilinir. Son evre olan dördüncü evrede oosit çapı artık 690–730 µm'dir. Bu evrede mayoz I tekrar başlar ve tamamlanır. Bu evre oositin olgunlaştığı evredir. Oosit olgunlaşır ve ovulasyon sonrasında artık ortalama 730–750 µm çapa sahip olgun yumurta oluşmuş olur. Oogenezi oluşturan bu evrelerin tamamı, genelde yetişkin bir zebra balığı yumurtalığında bulunur (Elkouby ve Mullins, 2017).

Oosit gelişimini değerlendirmek için kullanılan temel ölçütler, nükleus yapısı, vitellüs depolanması ve oositlerdeki zona radiata, granüloza ve teka tabakalarının oluşumudur (Çakıcı ve Üçüncü, 2007).

2.4.1. Primer oosit

Primer oosit, oosit gelişiminin başlangıç aşamasında oluşur. Bu evrede diğer oositlere kıyasla, daha küçük yapılıdır. Ooplazma yoğun bir şekilde boyanır. Oositler büyüdükçe, çekirdekcikler periferik bir hat oluşturacak şekilde kolayca görülebilir hale gelir (Çakıcı ve Üçüncü, 2007). Bu evrenin erken aşamalarında, küçük boyutlu oositler genellikle yuvarlak bir yapıya sahiptir. (Koç, 2008). Oositlerin büyümeye başladığı ve foliküllerin oluşmaya başladığı birincil büyüme aşamasıdır (Şekil 2.2). Kromozomların eşleşmesi, Balbiani cisimciği oluşumu, rekombinasyon gibi, oosit farklılaşması ve mayoz açısından önemli olan birçok olay primer oosit aşamasında gerçekleşir (Selman ve ark., 1993). Oositler, ilk mayotik bölünmenin erken aşamalarından geçer ve profaz I'de durur (Wu ve ark., 2000).



Şekil 2.2. Primer oosit (PO) (x40 büyütme, H&E).

2.4.2. Kortikal alveolar oosit

İkinci aşama olan kortikal alveolar aşama, periferik ooplazmada glikoprotein ve glikokonjugat içeren polisakkarit, lektin ve protein içeren, bir ya da birkaç katmandan oluşan, bazofilik boyanan kortikal alveol (yumurta sarısı kesecikleri ya da kortikal vezikül olarak da tanımlanan) yapılarının görünümü ile tanımlanabilir. Giderek gözlenen membranla çevrelenirler. Oositlerin çevresinde ve skuamöz yapıya sahip

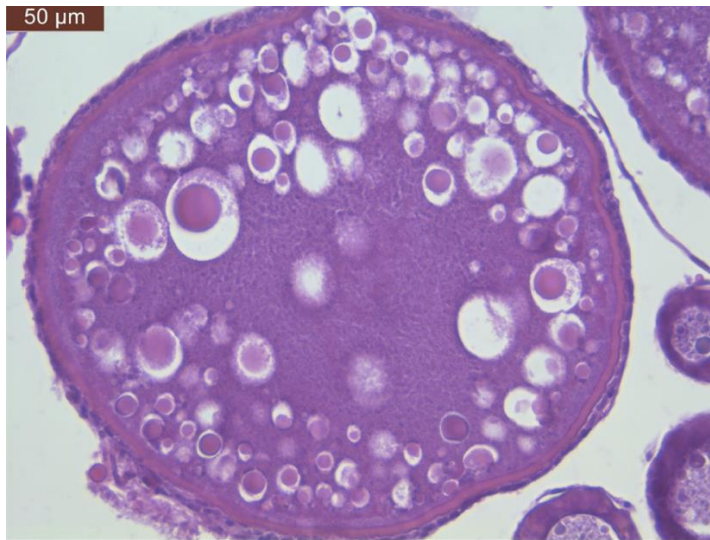
zona radiata gözlenir. (Şekil 2.3). Bu evrede kortikal alveoller oositlerin içinde birikir (Wu ve ark., 2000). Çekirdekçikler nukleusun periferinde dağınık bir şekilde gözlenir. Bu aşama, oositlerin vitellogenize geçme aşamasıdır.



Şekil 2.3. Kortikal alveolar oosit (x40 büyütme, H&E).

2.4.3. Vitellojenik oosit

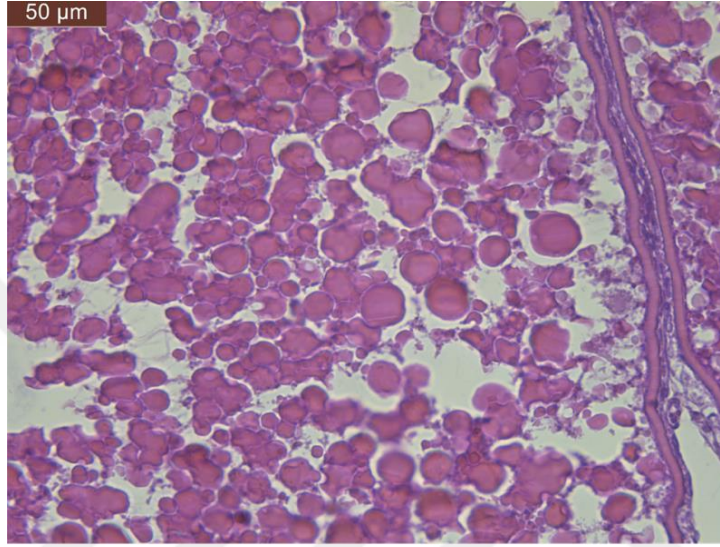
Vitellojenik aşamada, oositler vitellus birikimi sonucu büyürler. Oositlerin merkezlerinde vitellüs damlacıkları görülmeye başlar. Önceki evrelerde ince bir çizgi olarak görülebilen zona radiata, vitellojenik evrede kalınlaşmaya başlar (Koç, 2010). (Şekil 2.4.).



Şekil 2.4. Vitellojenik oosit. (x40 büyütme, H&E).

2.4.4. Olgun oosit

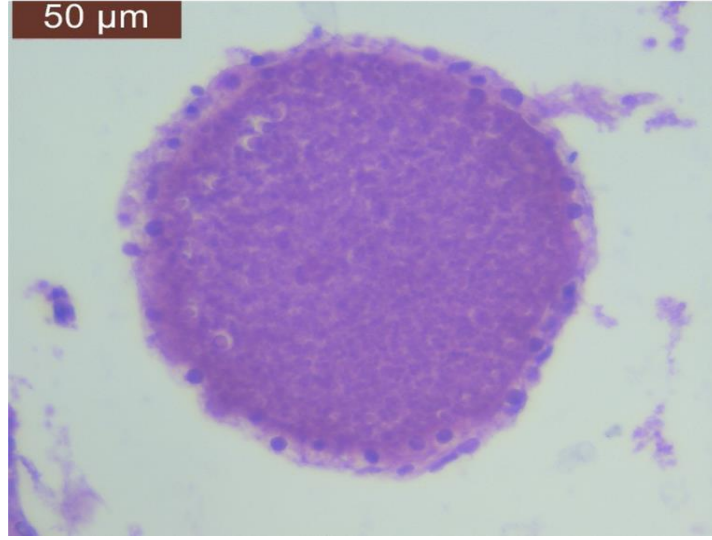
Oosit olgunlaşması son evrede gerçekleşir. Mayozun yeniden başladığı bu aşamada germinal vezikül (henüz mayoz bölünme gerçekleştirmemiş ve olgun olmayan yumurta hücreleri), oosit merkezinden periferine göç eder ve çekirdek zarı çöker. Son olarak da olgun yumurtalar (Şekil 2. 5.) döllerme için hazır hale gelir (Selman ve ark., 1993).



Şekil 2.5. Olgun oosit. (x40 büyütme, H&E).

2.4.5. Atretik oosit

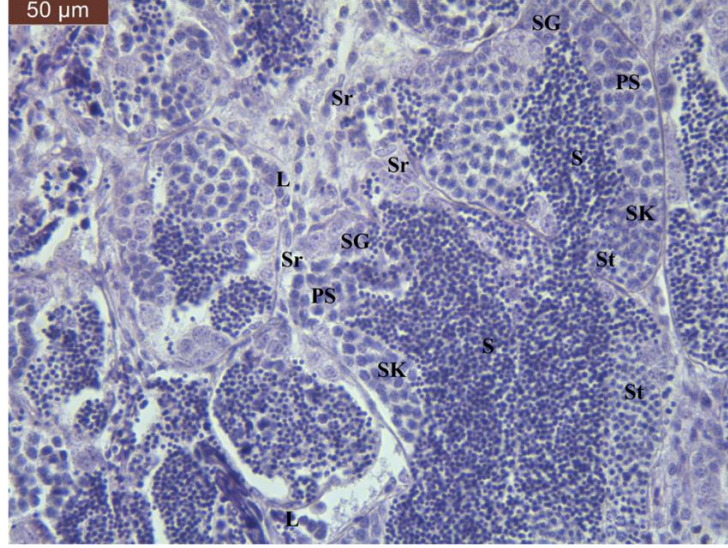
Yumurtalıklarda hücre dejenerasyonları gerçekleşebilmektedir. Bunlar; üreme hücreleri bozulması ya da atrezi olarak adlandırılan folikül bozulması şeklinde olabilmektedir (Kaipia ve Hsueh, 1997). Çekirdekte deformasyonların oluştuğu ve parçalanmaların başladığı oosit; atretik oosit olarak adlandırılır. Bu aşamada vitellin zarında da parçalanmalar görülebilir. (Aytekin ve ark., 2008). Atretik folikül (Şekil 2.6.) oluşumu, hormonlar tarafından kontrol edilen apoptotik bir süreç olarak tanımlanabilir (Hsueh, 1994).



Şekil 2.6. Atretik oosit. (x40 büyütme, H&E).

2.5. Zebra Balığı Testis Histolojisi

Balıkların testisi, karın duvarı ile yüzme kesesi arasında yer alan ve iki taraflı olarak bulunan bir organdır. Testis dokusunun histolojik incelemesinde; Seminifer tübüller, testis kanalları, bağ dokusu, spermatogenez sürecindeki hücreler ve Leydig hücreleri görülebilir. Spermatogenezde rol oynayan hücreler; spermatogonium (Şekil.2.8), birincil spermatosit (Şekil 2.9), ikincil spermatosit (Şekil 2.10), spermatid (Şekil 2.11) ve sperm (Şekil 2.12) hücrelerinden oluşur. Seminifer tübüllerin tabanında spermatogonyumlar, birincil ve ikincil spermatositler, spermatidler bulunurken, lümen kısmında sperm hücreleri yer alır. Ayrıca, seminifer tübülleri arasındaki bağ dokusunda Leydig hücreleri (Şekil 2.13) bulunur (Koç ve ark., 2012). (Şekil 2.7) Spermatogenezde üreme hücreleri, beslenme, destek ve hormonal etkileşimlerini Sertoli hücreleri (Şekil 2.14) aracılığı ile yaparlar. Sertoli hücreleri, seminifer tübül duvarında, bazal membrana yerleşmiş olan hücrelerdir ve üreme hücrelerini sararak aralarındaki boşluğu doldururlar (França ve ark., 2016).



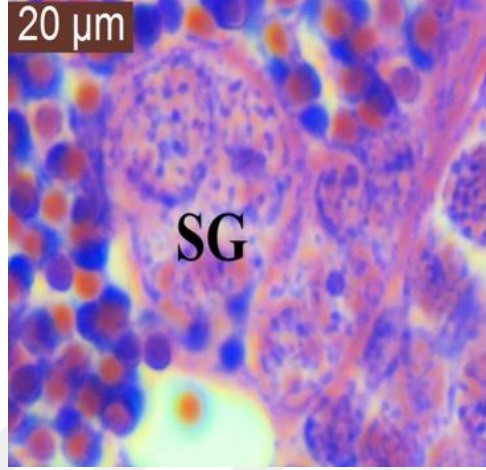
Şekil 2.7. Kontrol grubu genel testis dokusu görünümü. Spermatogonyum (SG), Primer Spermatosit (PS), Sekonder Spermatosit (SK), Spermatid (ST), Sperm (S), Leydig Hücresi (L), Sertoli Hücresi (Sr). (x40 Büyütme, H&E).

Zebra Balığı testisleri, spermatogenik epitel ile çevrili birçok tübül barındıran çift organlardır (Roberts ve Ellis 2001). Balıklarda spermatogenez sürecinin, memelilerdeki spermatogenezden farkı, her bir Sertoli hücresi yalnızca bir üreme hücresi ile temas halinde olmasıdır (Leal ve ark., 2009; Schulz ve ark., 2010). Spermatogenetik süreç boyunca çeşitli üreme hücre kistleri gözlemlenebilir (Menke ve ark., 2011).

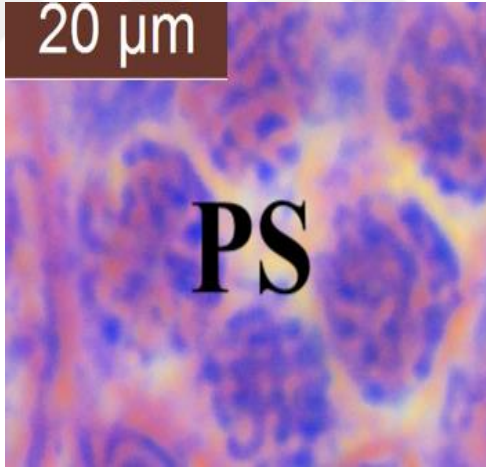
Spermatogenez sürecinde germ hücreleri, belirgin sitolojik evrelerden geçerler. Tübül duvarlarının stromasında bulunan germ hücrelerinden primer spermatogonyalar oluşur. Bu hücreler, yoğun kromatin içeren eozinofilik sitoplazmaya sahip belirgin bir çekirdek ile büyük hücrelerdir. Her primer spermatogonya, bir dizi mitotik bölünmenin ardından, kist içinde yer alan sekonder spermatogonya gruplarını oluşturur. Kistin duvarı, başlangıçta germ hücresi ile ilişkilendirilen bir Sertoli hücresi (Şekil 2.8.g) tarafından oluşturulur.

Primer spermatogonyalara göre daha küçük olan sekonder spermatogonyalar, geniş ve hafif bazofilik çekirdeklere ve sınırlı sitoplazmaya sahiptir. Bir sonraki mitotik bölünme aşaması sonucunda oluşan primer spermatositler daha küçük olup çekirdekleri giderek daha bazofilik hale gelir (Şekil 2.8.b). İlk mayotik bölünmeyi tamamlayan primer spermatositler, sekonder spermatositleri (haploid) oluşturur (Şekil 2.8.c).

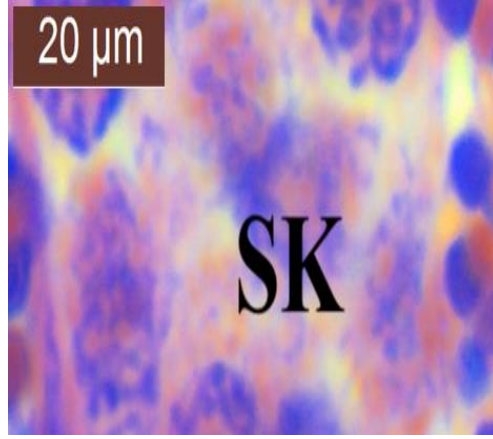
Sekonder spermatositler ikinci bir mayotik bölünme geçirirler. Bu bölünme sonucunda ortaya çıkan spermatidler yoğun bazofilik çekirdeklere ve az miktarda sitoplazmaya sahiptir ((Şekil 2.8.d). Bu evrede kist yırtılır ve spermatidler, son olgunlaşmanın gerçekleştiği testis lümenine salınır. Her spermatid bir spermatozoa (Şekil 2.8.e) haline dönüşür (Genten ve ark., 2009).



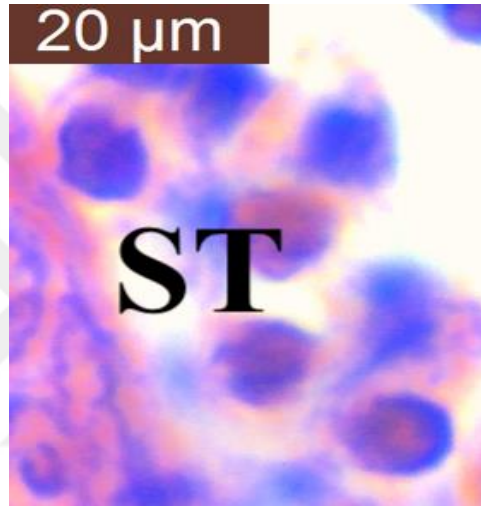
Şekil 2.8. Spermatogonyum. (x100 Büyütme, H&E).



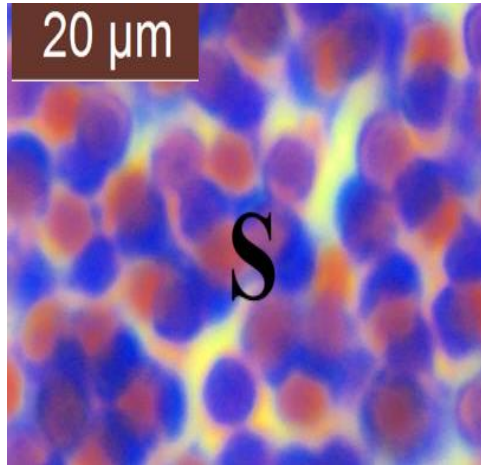
Şekil 2.9. Primer spermatosit (x100 Büyütme, H&E).



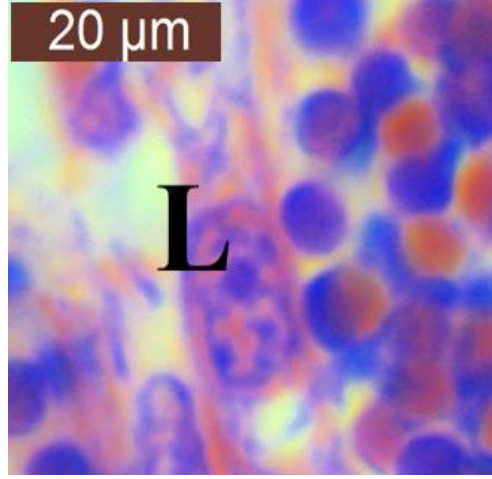
Şekil 2.10. Sekonder spermatosit. (x100 Büyütme, H&E).



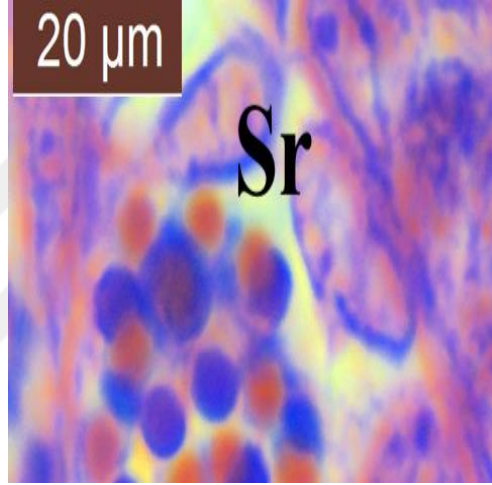
Şekil 2.11. Spermatid. (x100 Büyütme, H&E).



Şekil 2.12. Sperm. (x100 Büyütme, H&E).



Şekil 2.13. Leydig hücresi (x100 Büyütme, H&E).



Şekil 2.14. Sertoli hücresi (x100 Büyütme, H&E).

2.6. Pestisitler

Günümüzde önemli çevre sorunları içerisinde yer alan toprak kirliliğine sebep olan başlıca etkenler; kimyasal atıklar ve pestisitlerdir (Altıkat ve ark., 2009). Pestisitler, zararlı canlıları kontrol etmek, engellemek veya etkilerini hafifletmek amacıyla kullanılan, çeşitli maddelerden oluşan karışımlardır. Pestisitler, kimyasal bir bileşen, biyolojik bir etken olarak virüs veya bakteri, antimikrobiyal, dezenfektan veya diğer çeşitli araçlar olabilir (Güner, 2014).

Pestisit kullanımı, zararlı canlıları yok etme ve istenmeyen ot büyümesini engelleme amacıyla kimyasal maddeler içerir; bu nedenle, hedef olmayan bitkiler, kuşlar, balıklar, yararlı böcekler gibi diğer canlı türleri için zararlı olabilir ve aynı zamanda atmosfer, su kaynakları, toprak verimliliği ve tarım ürünlerini de olumsuz yönde etkileyebilir. Bunun yanı sıra, pestisitlerin sebep olduğu kirlenme, hedeflenen bitkisel

alandan taşarak çevresel kirliliğe neden olur. Bu kimyasal artıklar, çevresel ve besin yoluyla insan sağlığını riske atmaktadır (Tudi ve ark., 2021). Pestisitler, başlıca rüzgarlar ve yağmur suyu vasıtasıyla veya sürüklenme gibi etkenlerle, topraklara ve hem yüzey hem de yeraltı sularına ulaşabilir (Dionisio ve Rath, 2016).

Tarımsal arazilerde ürün eldesinde verim artması amacıyla kullanılan pestisitler; hedef organizmalardan kurtulup, üründe kaliteyi arttırabildiği gibi tarımsal alana ve diğer canlılara zarar da verebilmektedir. İnsanlarda hastalık yapan etkenler karmaşıktır ve sonuç, çevresel faktörlerden de etkilenir. Kimyasala maruziyetin biyokimyasal ya da diğer in vitro belirleyiciler ile birlikte etkisi, kimyasalın sadece ortama ilavesi ile de oluşabilir (Vural, 1984; Macmahon, 1994).

2.6.1. Pestisitlerin sınıflandırılması

Pestisitler, görünüş, fiziksel ya da kimyasal yapı, toksisite seviyeleri, hedef aldıkları alanlar ya da nasıl uygulandıkları gibi birçok farklı parametre kullanılarak farklı kategorilere ayrılabilir. Fakat sahip oldukları aktif madde ve hedef aldıkları alana göre sınıflandırılması çok daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu sınıflandırma; rodentisit, insektisit, akarisit, fungusit, herbisit, molluskusit, virisit, bakterisit ve nematodisit şeklindedir (Şekil 2.8). Hedef zararlılara veya odaklanılan canlı türlerine göre yapılan bu ayrım, en önemli üç pestisit kategorisi insektisitler, fungusitler ve herbisitlerdir (Tiryaki ve ark., 2010).

Pestisitlerin çeşitli yollarla kategorize edilebilmesi, gıdaları koruyarak veya üstün kalitede ürünler sağlayarak, pestisitlerin risk unsurlarını göz ardı etmeden kullanılmasına olanak tanır. Bu sayede, pestisitlerin gereğinden fazla ve kontrolsüz kullanımı engellenerek, kullanımları esnasında canlıların bu maddelere maruziyeti azaltılarak zehirli etkileri en aza indirilebilmektedir (Akashe ve ark., 2018).



Şekil 2.15. Pestisitlerin sınıflandırılması.

2.7. İnsektisitler

Böcekler, insan yaşamı ve sağlığı üzerinde pek çok etkisi bulunan canlı gruplarıdır. Fakat, bu etkiler genellikle zarar verici yöndedir. Parazit olarak hareket edebilir ya da insanlarda hastalık yayan patojenler taşıyor olabilirler. Malaria, sarı humma, tifüs, veba gibi pek çok ölümcül ya da sakatlıkla sonuçlanabilecek hastalıkların yayılmasında etkili olabilmektedirler (Wojciechowska ve ark., 2016).

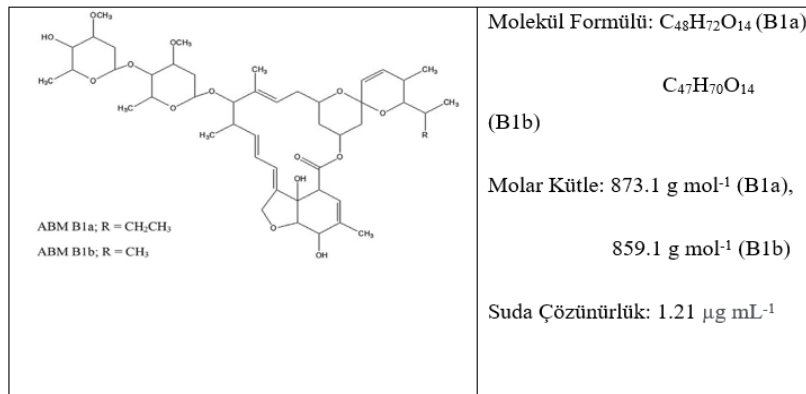
Tarımsal arazilerde ürün eldesi ve hasat veriminin artırılması için mahsüllerin zararlı böceklerden korumak amacı ile çeşitli yöntemler denenmiştir. Kullanılan ilk yöntemler doğrudan doğaya dayansa da insanlar, çeşitli böceklerle karşı doğal bileşiklerin etkisini fark etmiş ve bu bileşikleri tarım uygulamaları içerisine entegre etmeye başlamışlardır (Oberemok ve ark., 2015). Böcekleri kontrol eden kimyasal veya biyolojik kökenli maddeler olarak tanımlanan insektisitler, böceklerin kontrolünü sağlamak için öldürme, yok etme veya zararlı davranışlarını engelleme şeklinde etki ederler. Bu insektisitler, hedef zararlılara karşı çeşitli formülasyonlar ve dağıtım sistemleri (spreyler, yemler, yavaş salım difüzyonu vb.) kullanılarak doğal veya yapay olarak uygulanabilir (Ware ve Whitacre, 2004).

Günümüzde çoğunlukla sentetik insektisitlere başvurulmaktadır. Bu insektisit türleri arasında, özellikle organoklorlar (siklodienler, DDT gibi), organofosfatlar (kloropirifos, fention gibi) ve karbamatlar (aldikarb, metiyokarb gibi) gibi pestisitler yaygın olarak kullanılmaktadır (Hamilton ve Crosslay, 2004). Organofosforlu pestisitlerin, pamuk, tütün, şeker pancarı, sebzecilik gibi geniş bir kullanım alanı

mevcuttur. Bu grubun insanlar da dahil olmak üzere tüm hayvanlar üzerinde zehirli etkileri vardır. Bu sebeple, toprak ve su gibi çevresel örneklerde bu kimyasalın tespiti büyük önem arz etmektedir (Zhu ve ark., 2005).

2.7.1. Abamektin

Toprakta yaşayan bir bakteri türü olan Actinomycete (*Streptomyces avermetilis*)'nin fermentasyon ürünü olarak 16 elemanlı makrosiklik laktonlardan, Avermektinler oluşur (Raftery ve Volz 2015). Avermektin ailesinin üyeleri, insan ve hayvanlarda ilaç olarak ve bitki korumada kullanılan yüksek derecede etkili, fakat zehirli doğal maddeler olarak kategorize edilir. Abamektin ve ivermectin, bu aileden en sık tercih edilen iki bileşendir (Bai ve Ogbourne, 2016). Abamektin (%80 Avermektin B1a (5-0 demethyl Avermektin A1a) ve %20 Avermektin B1b (5-0-dimethyl-25-de -(1-methylpropyl)-25-(1-methylethyl) (ABM), büyük halkalı lakton disakkarit bileşik türüdür ve toprakta doğal olarak bulunan actinomycete *S. Avermitilis*'in doğal fermentesi sonucunda oluşur (Luo ve ark., 2013). Avermektin sınıfında yer alan abamektin, insektisit ve akarisit aktiviteleri içeren gama-aminobutirik asit (GABA) reseptörleri üzerine etkili olduğu bilinen bir pestisit çeşididir (Campbell, 1989; Novelli ve ark., 2012). Uygulama bölgelerinden farklı yollarla sucul ortama geçebilir ve su kirleticisi rolü ile sucul canlılar üzerinde olumsuz etkilerini gösterebilir (Tisler ve Erzen, 2006). Ancak, kısa ömürlü olması nedeniyle su ortamında tespiti zordur (Bai ve Ogbourne, 2016). Abamektinin etkili olduğu GABA reseptörleri merkezi sinir sisteminde bulunur ve balıklarda bu kimyasal memelilerden farklı olarak, kan- beyin bariyerini geçerek toksisiteye neden olmaktadır (Hoy ve ark.,1990; Katharios ve ark., 2004 Sanches ve ark., 2018).



Şekil 2.16. Abamektin'in fizikokimyasal özellikleri (ECHA, 2010).

Literatürde yer alan araştırmalar, avermektinlerin hedef olmayan türlerin de yaşamını, gelişimini ve çoğalmasını etkileyebileceğini belirtmiştir. Düşük seviyelerde dahi karada ve suda yaşayan canlılar için tehlikeler barındırdığını ortaya koymaktadır (Dionisio ve Rath, 2016).

Avermectin sınıfından bir insektisit ve antihelmintik ajan olan Abamektin, ivermectine çok benzerdir. İvermectin, 22–23 dihidroavermectin B1a' dır ve yalnızca bir çift bağın doygunluğu ile farklılık gösterir. Abamektin, böcek ve akarlar karşı yoğun olarak kullanılan bir tarım ilacıdır. Maruziyeti sonucunda zehirlenme, koma, hipotansiyon ve solunum yetmezliği oluşabilmektedir. Avermectin insektisitler, memelilerde GABA-A reseptörlerinin aktive olmasını sağlarlar. Fakat Abamektin ve ivermectinler kan-beyin bariyerini kolayca geçemediği ve memeli GABA-A reseptörleri için düşük afiniteye sahip olduğundan, tedavi edici dozlarda insan toksitesinin düşük olduğu düşünülmektedir (Pirasath ve ark., 2021). Reaksiyonun mekanizması tam olarak anlaşılmassa da, omurgasız ve omurgalılarda avermektinlerin direk aktivasyonun nörotoksitesiyi indüklediği, sonuç olarak da felç ve ölüm olduğu düşünülmektedir (Raftery ve Volz, 2015).

Çok çeşitli hayvan paraziti ve böceklerle karşı mücadelede veterinerlikte antihelmintik olarak geniş bir kullanım alanı bulan abamektin, uygulandığı alanlarda sulara karışarak su kirliliğine yol açabilmektedir (Tişler ve Koşuh Erzen, 2006).

Abamektin, badem, ceviz, elma, avokado, narenciye, üzüm, mısır ve pamuk için ayrıca da kabakgiller ve domates için tohumla muamele edilen bir nematisit olarak tescil edilen kimyasal bir maddedir. Doğal sularda Abamektin kalıntıları olması beklenir. Abamektinin biyolojik olarak parçalanması yavaştır (Ortalama yarı ömrün %90 üst güven sınırı = 80,6 gün). Düşük buhar basıncına sahip olması sebebiyle, buharlaşarak taşınımı olası değildir. Abamektinin toprakta aerobik yarılanma ömrünün 115 gün olduğu rapor edilmiştir. Hidrolize olmaya karşı kısmen kararlı bir bileşiktir fakat direk ışığa maruz kaldığı durumlarda oksidatif ve foto oksidatif mekanizmalarla ortamdaki ayrışabilir (toprak yüzeyinde fotoliz yarılanma süresi 21 saat) (US EPA, 2010).



3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Zebra balığı (*Danio rerio*)

Yapılmış olan çalışmada canlı materyal olarak erişkin zebra balıkları kullanılmıştır. İÜ Sapanca Sucul Canlı Deney Ünitesi'nden temin edilen 40 adet canlı ve erişkin zebra balığı (20 adet dişi, 20 adet erkek) İÜ Sapanca Sucul Canlı Deney Ünitesi'nde deney grupları oluşturularak çalışma gerçekleştirilmiştir.

3.1.2. Ortam koşulları

Yapılacak olan çalışma için İÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan gerekli izinler alındıktan sonra öncelikle İstanbul Üniversitesi Sapanca Sucul Canlı Deney Ünitesi'nde 3 adet balıkla ön deneme yapıldı. Yapılan ön deneme sonucunda, belirlenen dozlarda herhangi bir sorun ile karşılaşmadığı için İstanbul Üniversitesi Sapanca Sucul Canlı Deney Ünitesi'nden 40 adet balık daha talep edildi ve burada akvaryum sistemi kuruldu. Çalışmada yetişkin zebra balıkları kullanıldı. 13x22x29 cm. boyutlarındaki 4 adet akvaryuma su dolduruldu. Akvaryumlarda, su sıcaklığını $28\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de tutmak için ısıtıcı kullanıldı. Akvaryum suyu, hava motorları ile oksijenlendirildi ve akvaryumlarda herhangi bir filtreleme sistemi kullanılmadı. Ayrıca oda içerisinde otomatik aydınlatma sistemi kuruldu. Oda 14 saat aydınlık ve 10 saat karanlık evrede tutuldu. Akvaryumlar biri kontrol, diğerleri deney grubu olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Her grupta 5' i erkek 5'i dişi olmak üzere 10' ar adet zebra balığı akvaryumlara yerleştirildi.

3.1.3. Zebra balıklarına abamektin uygulaması ve doku eldesi

Çalışmamız öncesinde doz denemesi yapmak amacı ile 3 adet zebra balığı kullanılmış ve üç deney grubu oluşturulmuş ve yapılan ön denemede herhangi bir sorun ile karşılaşmamıştır. Çalışmamızın asıl deneylerinde kullandığımız zebra balıkları da ön denemede olduğu gibi İUSUCAN' dan temin edilmiştir. Her grupta 10 balık kullanılmış, deney gruplarına uygulanacak konsantrasyonlar, Abamektinli zebra balıklarında 96 saatlik LC_{50} konsantrasyonu ($59 \mu\text{g L}^{-1}$) (Novelli ve ark., 2012) baz alınarak belirlenmiştir. Kullanmış olduğumuz kimyasal maddenin LC_{50} dozu belirlidir.

Bu sebeple; LC₅₀ değerinin altında kalacak şekilde deney gruplarına uygulanacak Abamektin konsantrasyon değerleri, belirli dozun %50, %25 ve %12.5'i şeklinde olmasına karar verilmiş ve uygun şekilde deney yapılmıştır.

Çalışmamızda, kontrol grubu olarak belirlenen akvaryuma herhangi bir işlem yapılmazken, diğer deney gruplarının akvaryumlarına 0,75 µg L⁻¹, 1,5 µg L⁻¹ ve 3 µg L⁻¹ dozlarında Abamektin eklenmiş ve 96 saat süren maruziyetin ardından balıklar yüksek doz anestezi (MS-222, 300 mg/L) ile ötenaziye tabi tutulmuştur. Bu işlemten sonra, ovaryum ve testis dokuları çıkarılmak üzere disekte edilmiştir.

3.2. Metod

3.2.1. Histolojik işlemler

Çıkarmış olduğumuz ovaryum ve testis dokuları Bouin çözeltisi içerisinde fikse edildikten sonra yükselen etanol serilerinden geçirilerek dehidrayson işlemi gerçekleştirildi. Daha sonrasında ksilol kullanılarak yapılan şeffaflandırma işlemi sonrasında parafin bloklara gömüldü. Leica marka mikrotom ile 5 µm kalınlığında kesitler alındıktan sonra boyama işlemine geçildi. Hematoksilen Eozin boyama işlemi yapılan dokular yine Leica marka ışık mikroskobu kullanılarak incelendi.

3.2.1.1. Fiksasyon

Disekte edilen zebra balıklarından elde edilen ovaryum ve testis dokularını fikse etmek için Bouin çözeltisi kullanıldı (Tablo 3.1). 24 saatlik fiksasyon işlemi sonrası işlemlere devam edildi.

Tablo 3.1. Fiksasyon (Tespit) uygulaması.

Solüsyon	İçerik	Miktar	Uygulama süresi
Bouin Çözeltisi	Suda Doymuş pikrik asit	75 mL	2- 24 Saat
	% 40 Formaldehit	25 mL	
	Glasiyal asetik asit	5 mL	

3.2.1.2. Dehidrasyon

Dokular, içerisindeki suyun uzaklaştırılabilmesi için yükselen alkol serilerinden geçirildi (Tablo 3.2). Her bir aşama, 24 saatlik uygulama süresi içerisinde gerçekleştirildi.

Tablo 3.2. Dehidrasyon uygulaması.

Solüsyon	İçerik	Miktar	Uygulama Süresi
%70 Alkol	Ethanol	70 mL	1 Gün
	Distile Su	30 mL	
%80 Alkol	Ethanol	80 mL	1 Gün
	Distile Su	20 mL	
%90 Alkol	Ethanol	90 mL	1 Gün
	Distile Su	10 mL	
%95 Alkol	Ethanol	95 mL	1 Gün
	Distile Su	5 mL	
%100 Alkol	Ethanol	100 mL	1 Gün

3.2.1.3. Şeffaflaştırma ve parafinden geçirme

Elde edilen ovaryum ve testis dokuları, yükselen alkol serilerinden geçirildikten sonra doku içerisinde bulunan alkolün ksilol ile yer değiştirmesi için 24 saat ksilolde bekletildi. Bu aşama sonrasında dokular ksilol + parafin içerisinde etüvde (58 °C) 6 saat bekletildikten sonra parafin bloklara gömüldü (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Dokuları parafin bloklara gömme işlemi.

3.2.1.4. Kesit alma

Ovaryum ve testis dokularının parafin bloklara gömülmesi işlemi sonrasında bloklar oda sıcaklığında bekletilerek katı hal alması sağlandı. Kesit alma işlemi için hazır hale gelen bloklardan, Leica marka mikrotom kullanılarak 5 µm kalınlığında kesitler alındı (Şekil 3.2.). Kesitler alındıktan sonra sıcak su banyosu içerisinde açılarak pürüzsüz hale gelmesi sağlandı ve son işlem olarak dokular lamlara alındı.



Şekil 3.2. Kesit alma işlemi.

3.2.1.5. Boyama

Kesit alındıktan sonra lamlara alınan dokular, ışık mikroskobu altında incelemesi için Hematoksilen Eozin boyama işleminden geçirildi (Tablo 3.3.). Bu takibe göre boyama işlemi tamamlandı (Şekil 3.3.).

Tablo 3.3. Hematoksilen Eozin boyama prosedürü.

İşlem	Uygulama Süresi
Parafinden kurtarma; Ksilol ile	2x5 dk
Dehidrasyon; %100 Ethanol ile	3 dk
Dehidrasyon; %90 Ethanol ile	3 dk
Dehidrasyon; %70 Ethanol ile	3 dk
Akarsu Altında	1 dk
Harris Hematoksilen	2 dk
Distile Su	6 dk
%95 Ethanol	3 dk
%95 Ethanol	3 dk
Eozin	6 dk
%100 Ethanol	3 dk
%100 Ethanol	3 dk
Ksilol	3 dk



Şekil 3.3. Boyama işlemi.



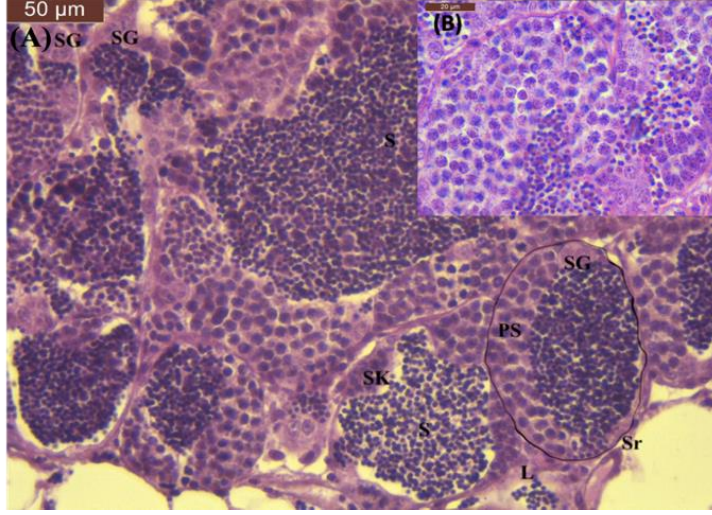
4. ARAşTIRMA BULGULARI

4.1. Histolojik Analizler

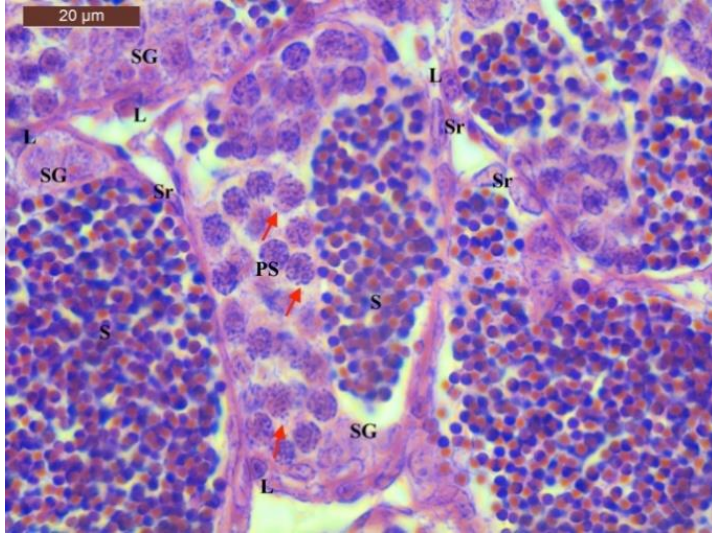
4.1.1. Zebra balığı testis dokusu

4.1.1.1. Kontrol grubu

Zebra balığı kontrol grubu testis dokusu histolojik olarak incelendiğinde, seminifer epitel tarafından çevrelenen seminifer tübüller gözlemlendi. Seminifer tübüller arası alanda (intertisyel alan) oval çekirdekli, yuvarlak şekle sahip, intertisyel hücreleri olarak tanımlanan, androjen sentezi yapan Leydig hücreleri izlendi. Seminifer tübüller içinde, spermatogenik hücreler olan belirgin büyük çekirdekli spermatogonyum (2’li ve 3’lü hücre kümesi halinde), spermatogonyum hücrelerinden daha küçük hacimli ve yoğun sitoplazmalı primer spermatositler, primer spermatositlerden daha küçük ve yuvarlak morfolojide sekonder spermatositler, hücre kümeleri içinde küçük boyutlu olarak gözlenen spermatidler, tübüller içinde merkezi konumlu sperm hücreleri kümeleri oluşturmuş şekilde tanımlandı. Sperm hücreleri, seminifer tübüllerin merkezi alanı içinde tespit edildi. Seminifer tübüllerin bazal membranında düzensiz çekirdeğe sahip Sertoli hücreleri de gözlemlendi.



Şekil 4.1. A: Zebra Balığı kontrol grubu testis dokusu. Sperm (S), Spermatogonyum (SG), Primer Spermatozoa (PS), Sekonder Spermatozoa (SK), Leydig Hücresi (L), Sertoli Hücresi (Sr), (x40 büyütme, H&E). B: Kontrol Grubu seminifer tübül genel yapısı. (x100 büyütme, H&E).

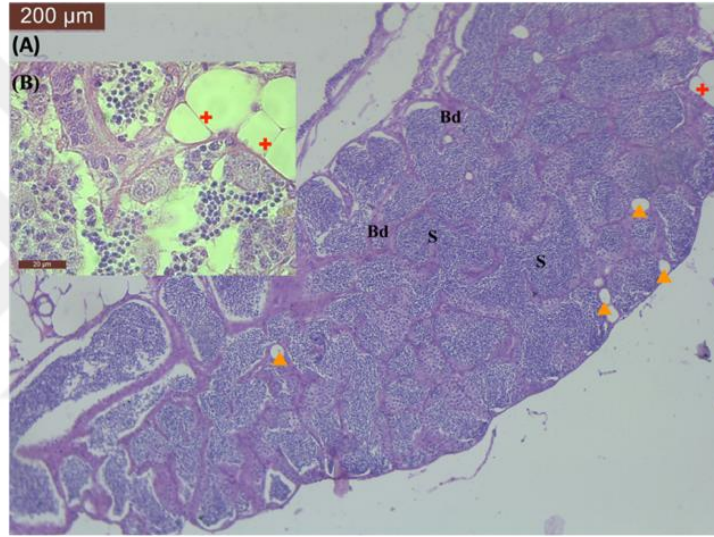


Şekil 4.2. Seminifer tübül genel yapısı. Spermatogonium (SG), Primer Spermatozoa (PS), Sperm (S), Sertoli Hücresi (Sr), Leydig Hücresi (L), Primer spermatozoa (PS) (kırmızı ok). (x100 büyütme, H&E).

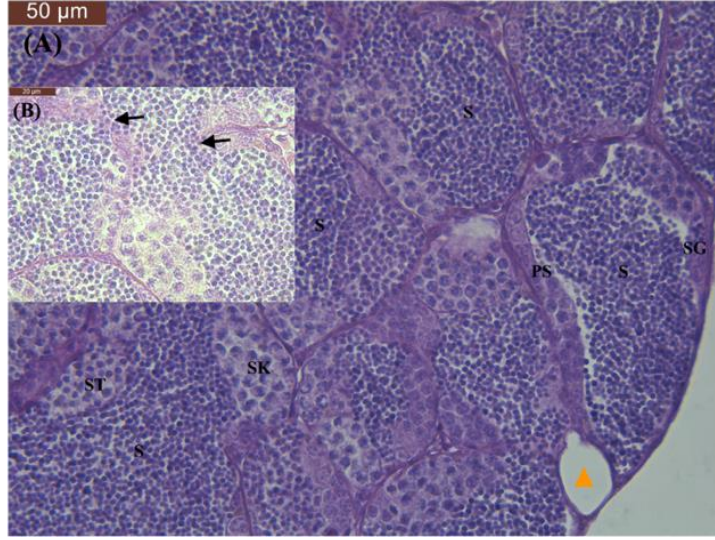
4.1.1.2. 0,75 $\mu\text{g L}^{-1}$ Abamektin'e maruz kalan testis dokusu

0,75 $\mu\text{g L}^{-1}$ Abamektin maruziyetine bağlı olarak, zebra balığı testis dokusu içinde yer yer vakuol oluşumu gözlemlendi. Seminifer tübüller arası bölgede, bağ doku artışı (intertisyel fibrosis) tespit edildi. Seminifer tübüller içinde, sperm yoğunluğunun arttığı, gelişen spermatogenik hücre kümelerinin azaldığı fark edildi. Testis dokusu içinde yer yer adiposit infiltrasyonu izlendi (Şekil 4.3) Seminifer tübüler alanda vakuolizasyon tespit edildi. Yer yer seminifer tübül düzeninde bozulma, tübüller arasında birleşme meydana geldiği gözlemlendi. Spermatogenik hücre kümelerinin

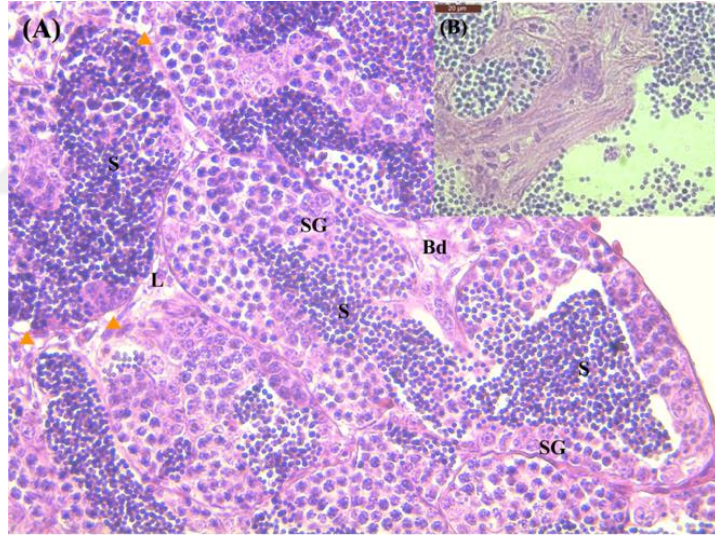
(kistleri) yoğunluğunun azaldığı, sperm sayısının arttığı izlendi. Bazı primer spermatositlerde ve Sertoli hücresinde hipertrofi belirlendi (Şekil 4.4) Bazı seminifer tübülleri çevreleyen germinal epitel ve bazal laminanın yapısal dejenerasyonuna bağlı olarak seminifer tübül sınırları seçilemedi. Tübüller arası alanda bağ dokuda, kollajen lif yapılarında (İntertisyel fibrosis), intertisyel hücrelerinde sayıca artış belirlendi. Yer yer tübüller arası alanda vakuolizasyon fark edildi. Hücre kümelerini çevreleyen kistlerde yapısal bozulma izlendi. Piknotik hücre yapıları görüldü (Şekil 4.5) Spermatogenik seride yer alan hücre kümelerinde hipertrofik hücreler belirlendi. Apoptotik hücreler izlendi. Spermatid hücrelerinde azalma görüldü. İntertisyel alanda, kanlanma tespit edildi. Bazı kesitlerde genel atrofi belirlendi (Şekil 4.6- Şekil 4.7).



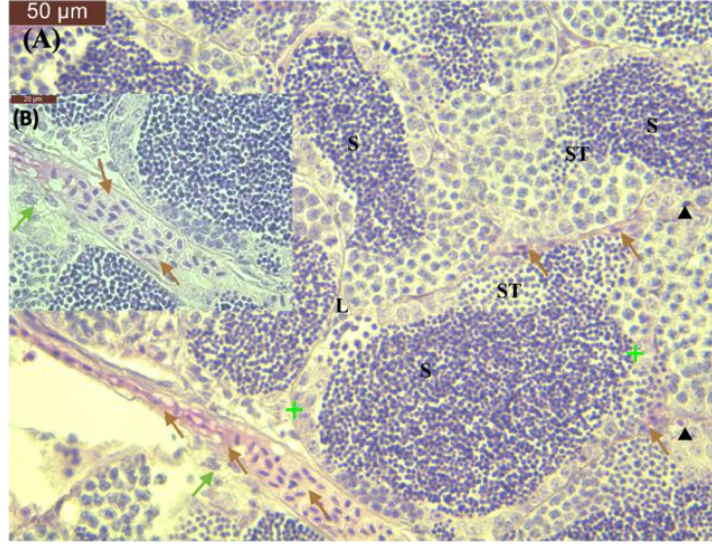
Şekil 4.3. 0,75 µg L⁻¹ Abamektin uygulanan testis dokusu **(A):** Sperm (S), Vakualizasyon (Turuncu Üçgen), Bağ Doku (BD), Adiposit infiltrasyonu (Kırmızı artı) (x10 büyütme, H&E). **(B):** Vakualizasyon. Azalan spermatogenik hücre kümeleri, Adiposit infiltrasyonu (Kırmızı artı). (x100 büyütme, H&E).



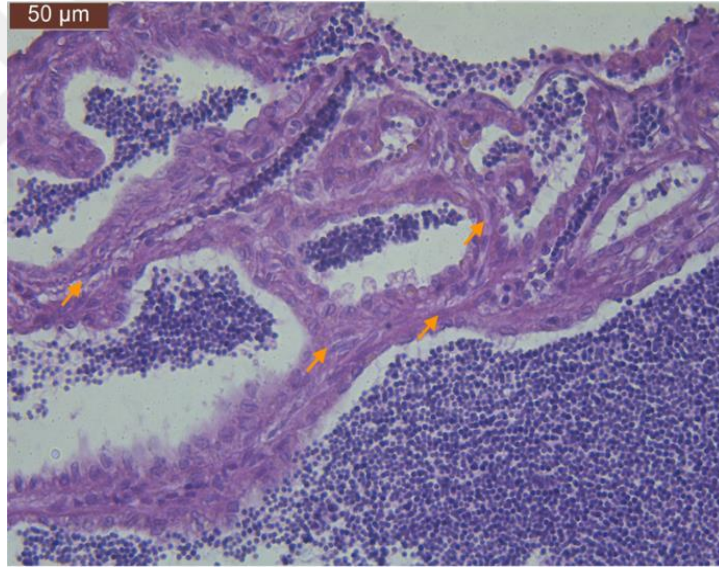
Şekil 4.4. 0,75 $\mu\text{g L}^{-1}$ Abamektin uygulanan testis dokusu. (A): Sperm (S), Spermatogonyum (SG), Primer Spermatozot (PS), Sekonder Spermatozot (S), Vakualizasyon (Turuncu Üçgen), (x40 büyütme), (B): Dejenere olan ve seçilemeyen bazal lamina (Siyah ok). (x100 büyütme, H&E).



Şekil 4.5. 0,75 $\mu\text{g L}^{-1}$ Abamektin uygulanan testis dokusu **(A):** Sperm (S), Spermatogonyum (SG), Bağ Doku (BD), Vakualizasyon (Turuncu Üçgen), Leydig Hücresi (L). (x40 büyütme, H&E). **(B):** Kalınlaşan bağ doku ve kollojen lif, intertisyal hücreler. (x100 büyütme, H&E).



Şekil 4.6. 0,75 $\mu\text{g L}^{-1}$ Abamektin uygulanan testis dokusu. **(A):** Sperm (S), Spermatit (ST), Piknotik çekirdek (siyah üçgen), Kanlanma (Kahverengi Ok), Dejenere olmuş germ hücre kümesi (yeşil ok). (x40 büyütme, H&E) **(B):** Dejenere olmuş germ hücre kümesi (Yeşil Ok). (x100 büyütme, H&E).

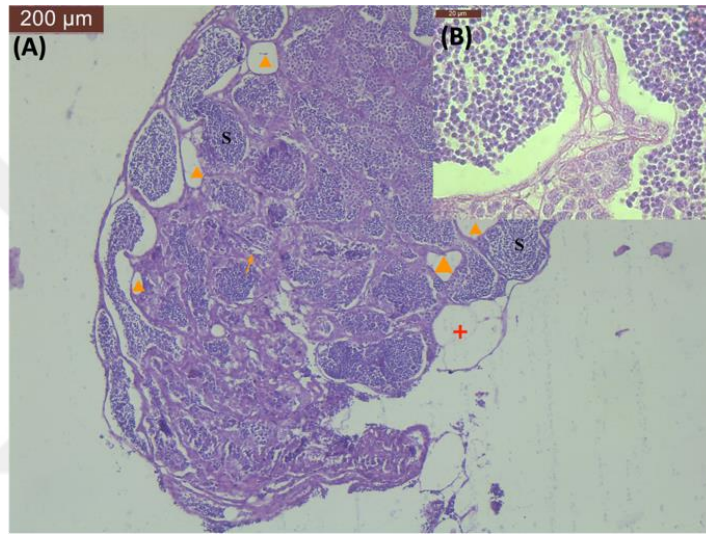


Şekil.4.7. 0,75 $\mu\text{g L}^{-1}$ Abamektin uygulanan testis dokusu. Seminifer tübüllerde gözlenen genel atrofi. Tübüller arası alanda ileri düzeyde intertisyel fibrosis, tamamen ortadan kalkmış spermatogenik hücre kümeleri. (x40 büyütme, H&E).

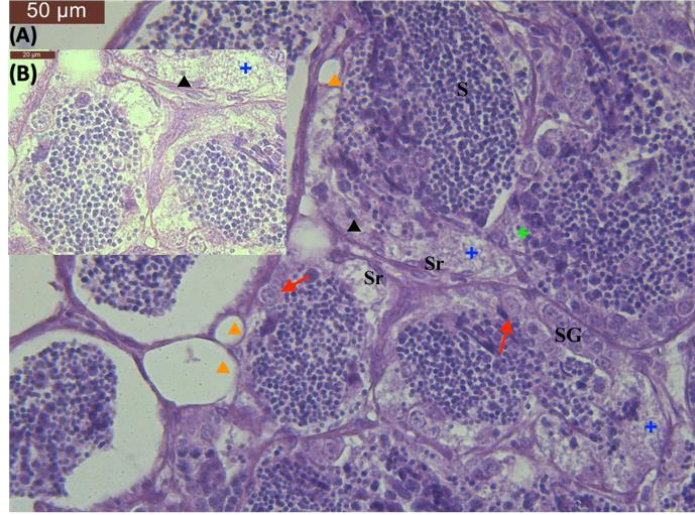
4.1.1.3. 1,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ Abamektin'e maruz kalan testis dokusu

Bu doz grubunun bulguları, kontrol grubu bulguları ile kıyaslandığında genel atrofi düzeyinde artış izlendi. Seminifer tübüller arası alanda vakuol oluşumunda belirgin artış görüldü. İntertisyel alanda fibrosiz düzeyi ilerlemişti. İntertisyel hücrelerde artış belirlendi (Şekil 4.8) Seminifer tübüllerin bütünlüğünde bozulma görüldü. Seminifer tübüller içinde yer alan spermatogenik hücre kümelerinde belirgin azalma varken, bazı

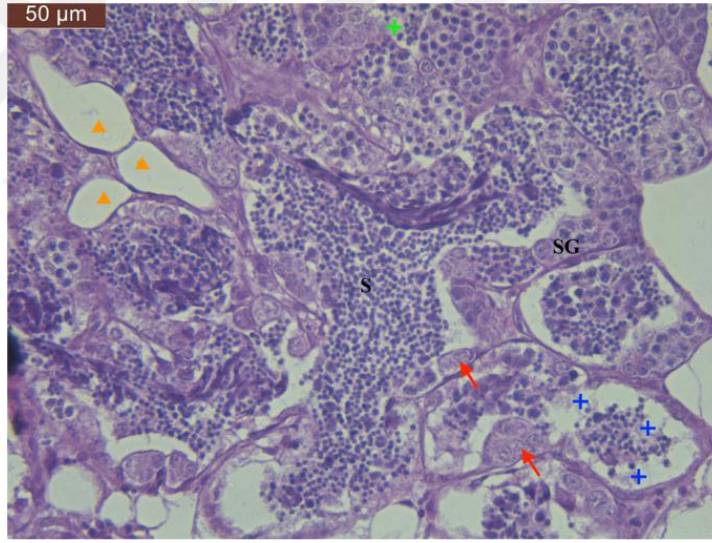
tübüllerde gelişen spermatogenik hücre kümeleri izlenmedi. Tanımlanan spermatogenik hücre kümeleri içinde nekrotik alanlar ve apoptotik hücreler tespit edildi. Leydig hücrelerinde hiperplazi gözlemlendi. Dejenere (yapısal bozulmaya uğramış) hücrelerden oluşan kümeler belirlendi (Şekil 4.9) Seminifer tübüllerde germinal epitelde bozulma görüldü. Tübüllerde bütünlüğün ortadan kalktığı, hücre kümelerinin yapısal bütünlüğünün bozulduğu görüldü. Tüm testis dokusunda ileri düzeyde vakuolizasyon yaygın şekilde karşımıza çıktı. Yaygın atrofinin şekillendiği tespit edildi (Şekil 4.10) Testis dokusu içinde tübüllerde germinal epitel yapısının bozulduğu, intertisyal alanda bağ dokusunun arttığı farkedildi (Şekil 4.11).



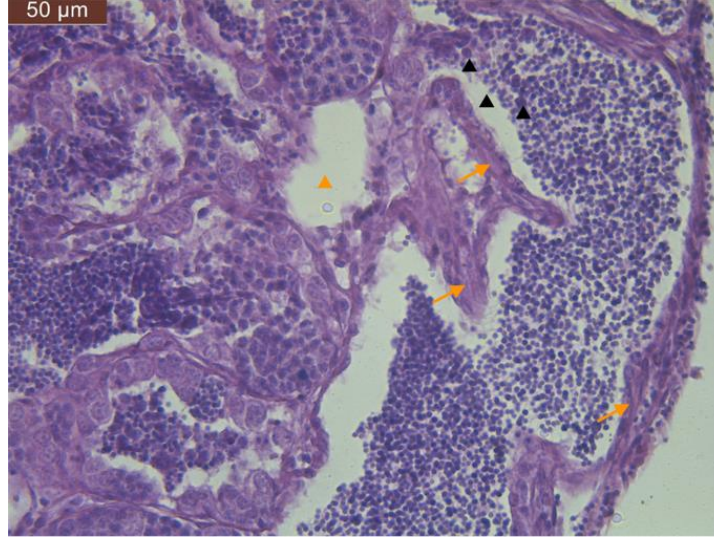
Şekil 4.8. 1,5 µg L⁻¹ Abamektin uygulanan testis dokusu. **(A):** Genel atrofik görünüm, Sperm (S), Vakualizasyon (Turuncu Üçgen), Fibrosis (Turuncu Ok), Adiposit infiltrasyonu (Kırmızı artı). (x10 büyütme, H&E). **(B):** Fibrosis Oluşumu (x100 büyütme, H&E).



Şekil 4.9. $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$ Abamektin uygulanan testis dokusu. **(A):** Nekrotik alan (Mavi artı), Piknotik çekirdek (Siyah üçgen), Apoptotik hücre (Yeşil artı), Sperm (S), Sertoli hücresi (Sr), Spermatogonyum (SG) hücrelerinde hipertrofi (Kırmızı ok), Vakualizasyon (Turuncu Ok). (x40 büyütme, H&E). **(B):** Nekrotik alan (Mavi artı), Piknotik çekirdek (Siyah Üçgen). (x100 büyütme, H&E).



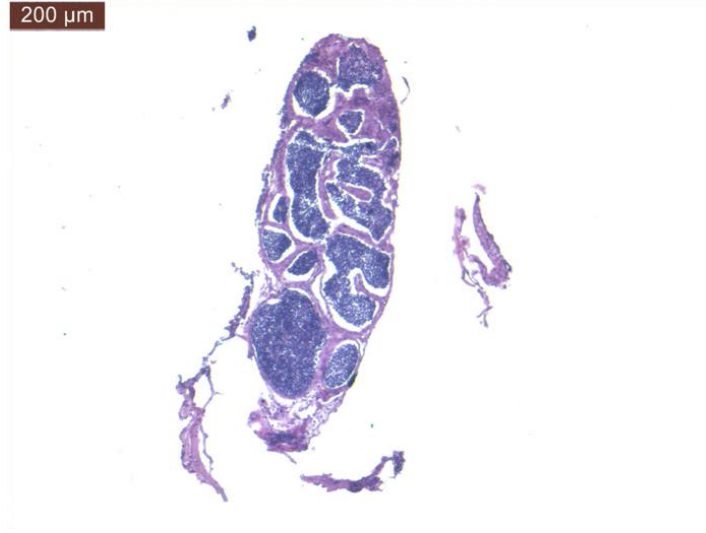
Şekil 4.10. Seminifer tübüllerde ilerleyen atrofi, yapısal bütünlüğü bozulan hücre kümeleri (Mavi artı), Apoptotik hücre (Yeşil artı), Sperm (S), Spermatogonyum (SG) hücrelerinde hipertrofi (Kırmızı ok). (x40 büyütme, H&E).



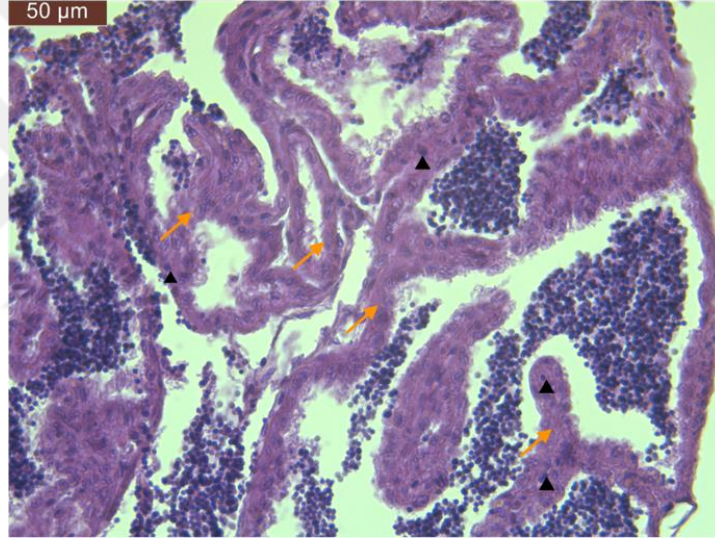
Şekil 4.11. Seminifer tübüler yapısında bozulma, İntertisyel fibrosiz (Turuncu ok), Piknotik çekirdek (Siyah üçgen), Vakuolizasyon (Turuncu üçgen). (x40 büyütme, H&E).

4.1.1.4. 3 µg L⁻¹ Abamektin’e maruz kalan testis dokusu

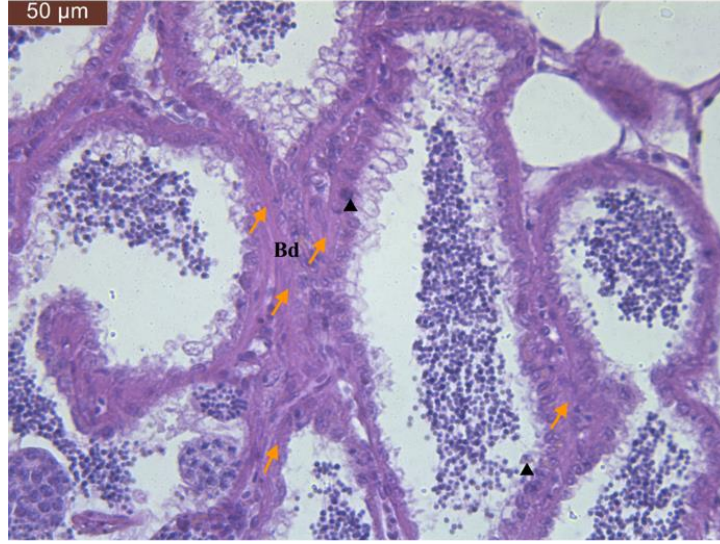
Yüksek doz Abamektin maruziyetine bağlı olarak zebra balığı testis dokusunda ilerleyen düzeyde atrofi izlendi. Seminifer tübüllerde spermatogenik hücre kaybı belirlendi. Yapısal olarak bozulmaya uğrayan seminifer tübül morfolojileri izlendi. Testis dokusunda fibrosis bulgularının tanımlandığı bölgelerde artış belirlendi (Şekil 4.12). Yüksek dozda testisküler dejenerasyonda artış, seminifer tübül bütünlüğünün ortadan kalkması spermatogenik hücre kümelerinin seminifer tübüller içinde gözlenmediği fark edildi (Şekil 4.13). Testis dokusunda ciddi histolojik lezyonlar gözlemlendi. Tübül duvarlarında daha şiddetli kalınlaşma, tübül içi atrofik hücre görünümünün artması, piknotik görünümlü hücreler, gelişen spermatogenik hücre kümelerinin çok yüksek düzeyde kaybolması, ileri düzey vakuolizasyon ve tübüller arası alanda yoğun fibrosis gözlemlendi (Şekil 4.14).



Şekil 4.12. $3 \mu\text{g L}^{-1}$ Abamektin uygulanan testis dokusu genel görünüm. x10 büyütme, H&E.



Şekil 4.13. Testis dokusunda ileri düzeyde atrofik görünüm, İntertisyel fibrozis (Turuncu ok) Artan intertisyel hücrelerde piknotik görünümlü hücre (Siyah üçgen). (x40 büyütme, H&E).



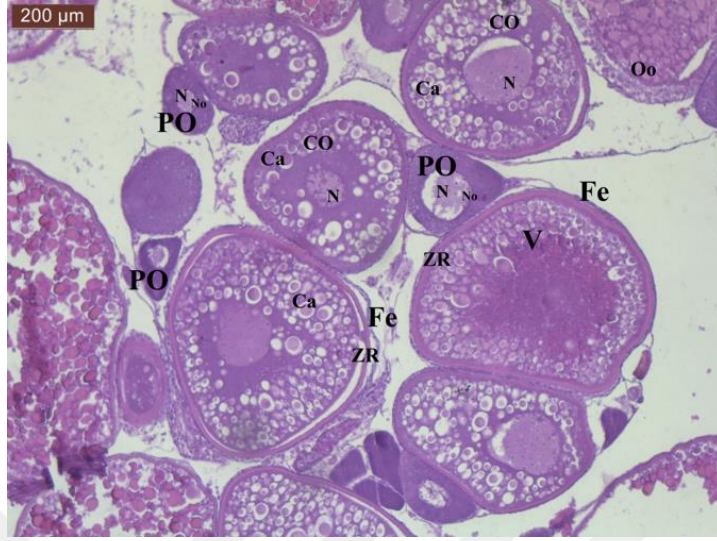
Şekil 4.14. Atrofik görünümlü testis dokusu. İleri düzeyde fibrozis (Turuncu ok), Artan bağ doku hücrelerinde (Bd) hiperplazi, piknotik görünümlü hücreler (Siyah üçgen). (x40 büyütme, H&E).

4.1.2. Zebra balığı ovaryum dokusu

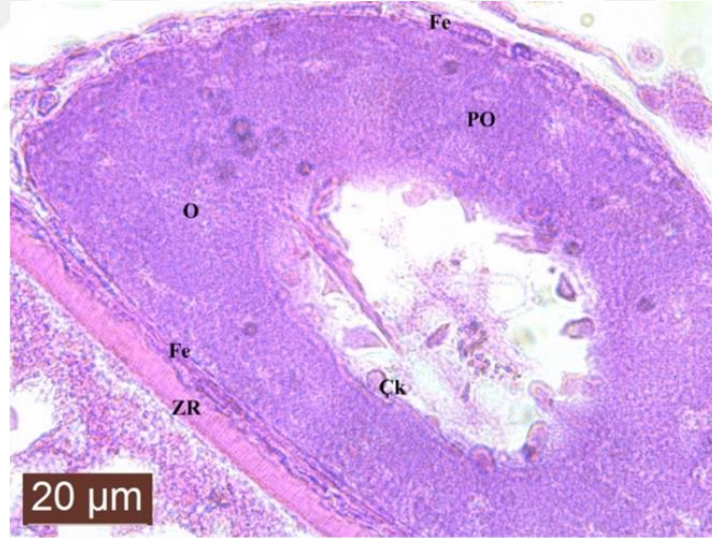
4.1.2.1. Kontrol grubu

Hematoxylin ve Eosin (H&E) boyama yöntemi sonucunda yapılan incelemede, zebra balığı kontrol grubunun ovaryum dokusunun normal histolojik yapı sergilediği belirlendi. Kontrol grubunda, primer oosit, kortikal alveolar oosit, vitellojenik oosit ve olgun oosit gibi farklı gelişim aşamalarındaki oosit yapıları tespit edildi (Şekil 4.15). Primer oositler, çevrelerindeki birkaç çekirdekcik ve sitoplazmada gözlenen belirgin bazofilik yoğunlukların küçük, lokalize bölgeleri ile karakterize edilir. Bu aşamada, sitoplazmaya kıyasla nükleusların daha büyük ve daha yuvarlak olduğu gözlemlendi (Şekil 4.15, Şekil 4.16, Şekil 4.17). İkinci aşama olarak tanımlanan kortikal alveolar aşamasında, oositlerin çapında belirgin bir artış kaydedildi. Kortikal alveoller ooplazmanın periferinde konumlanmıştı (Şekil 4.17). Vitellojenik aşamada ise, oositlerin vitellus birikimi sonucu boyutlarında artış belirgindi (Şekil 4.15). Olgunlaşan oositlerde, çekirdeğin çözülüp kaybolması ve ooplazmanın vitellus partikülleri ile dolu olması karakteristiktir. Bu aşamada, nükleusu çevreleyen membranın parçalanması sebebiyle çekirdek morfolojisi net olarak ayırt edilemedi, nükleoluslar sitoplazmaya dağılmıştı (Şekil 4.15). Zona radiata tabakası, oosit membranı ve folikül epiteli arasında yerleşen bir yüzeydi (Koç, 2010). Gelişim ilerledikçe zona radiata yapısında kalınlaşma meydana belirlendi (Yon ve Akbulut,

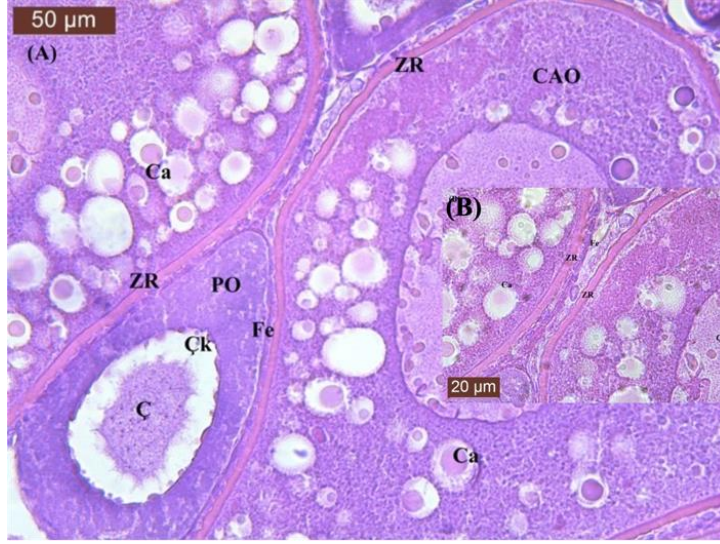
2013). Kontrol grubuna ait elde ettiğimiz resimlerde zona radiata yapısı net bir şekilde görüldü (Şekil 4.15, Şekil 4.16, Şekil 4.17, Şekil 4.18).



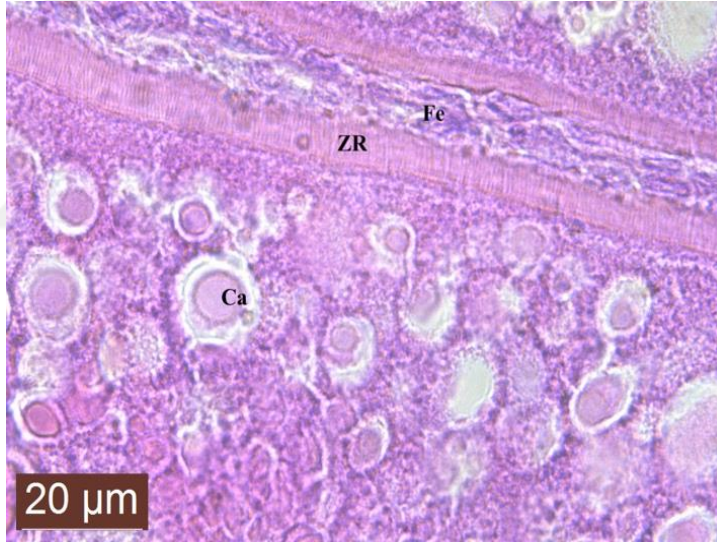
Şekil 4.15. Zebra Balığı ovaryum dokusu kontrol grubu. Primer Oosit (PO), Kortikal Oosit (CO), Vitellojenik Oosit (VO), Olgun Oosit (Oo), Kortikal Alveol Ca), Çekirdek (Ç), Çekirdekcik (Çk), Foliküler Epitel (Fe), Zona Radiata (ZR). (x10 büyütme, H&E).



Şekil 4.16. Kontrol ovaryum primer oosit. (x100 büyütme, H&E).



Şekil 4.17. (A): Kontrol grubu. Primer Oosit (PO), Kortikal Alveolar Oosit (CAO), Kortikal Alveol (Ca), Zona Radiata (ZR), Foliküler Epitel (Fe), Çekirdek (Ç), Çekirdekcik (Çk). (x40 büyütme, H&E). **(B):** Kontrol Grubu. Zona Radiata, Foliküler Epitel ve Kortikal Alveoller. (x100 büyütme, H&E).

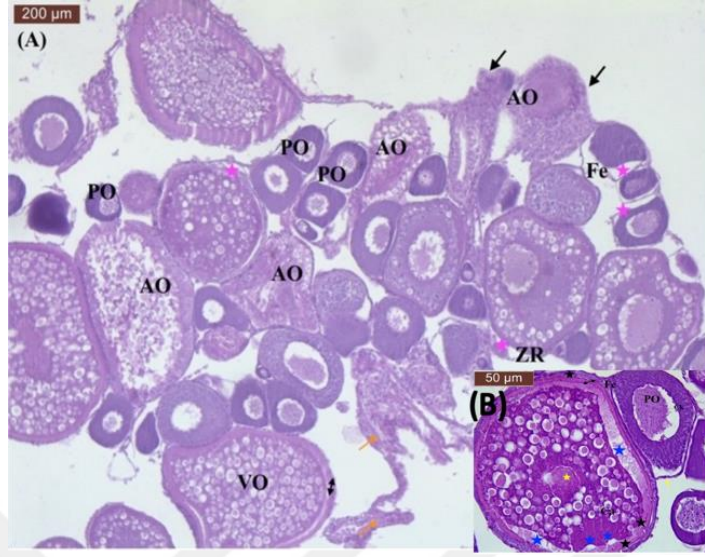


Şekil 4.18. Kontrol grubu. Zona Radiata, Foliküler Epitel, Kortikal Alveoller. (x100 büyütme, H&E).

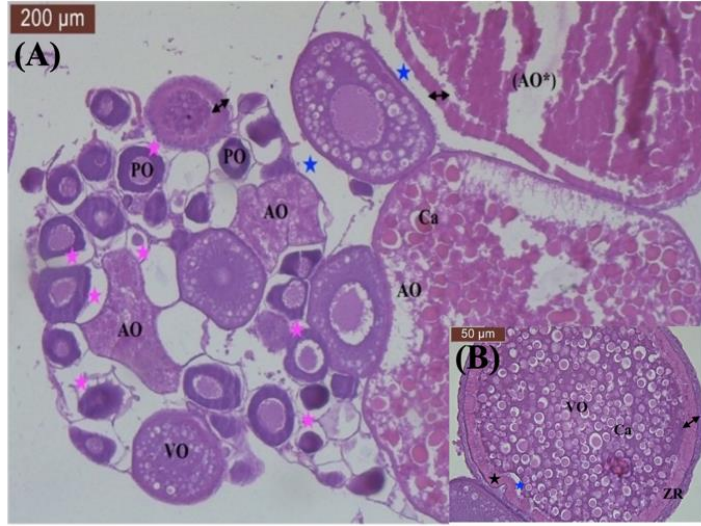
4.1.2.2. 0,75 $\mu\text{g L}^{-1}$ Abamektin'e maruz kalan ovaryum dokusu

0,75 $\mu\text{g/L}$ Abamektin maruziyeti sonrası zebra balığı deney grubu ovaryum yapısında, histopatolojik anomaliler gözlemlendi. Zona Radiata ve ooplazma arasında açıklık olduğu görüldü (Şekil 4.21). Primer oosit miktarında bir artış kaydedilmiş olmasına rağmen, vakuolizasyon oranında da artış saptandı. Zona radiata ile foliküler epitel hücreleri arasında ayrılma gözlemlendi (Şekil 4.19, Şekil 4.20). Ayrıca, bu membran içerisinde bazı bölgelerde hem açılma hem de katlanma görüldü. Kortikal alveoller oosit yapılarında bozulma ve dağılma baş göstererek, atretik oosit formasyonu dikkat

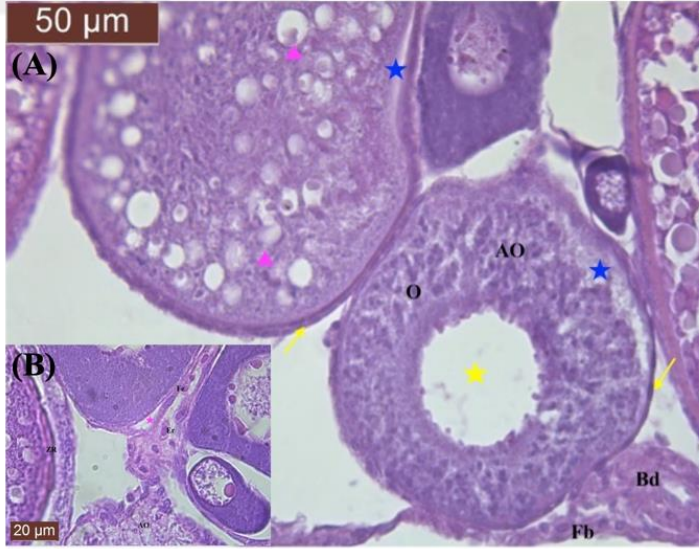
çekici oldu. Oositler arası alanda (intertisyel alanda) fibrosizin geliştiği görüldü (Şekil 4.19, Şekil 4.21, Şekil 4.22).



Şekil 4.19. (A): $0,75 \mu\text{g L}^{-1}$ Abamektin uygulanan ovaryum dokusu. Primer oosit sayısında artış, gelişen oosit sayısında azalma. Primer Oosit (PO), Vitellojenik Oosit (VO), Atretik Oosit (AO), Deforme Olmuş Zona Radiata (Siyah Ok), Zona Radiata (ZR), ZR ve Fe arası açılma (Pembe Yıldız), Zona radiatada kalınlaşma (iki uçlu siyah ok), Fibrosis (Turuncu ok), (x10 büyütme, H&E). **(B):** $0,75 \mu\text{g L}^{-1}$ Abamektin uygulanan ovaryum dokusu. Başlangıç evresinde atrezi bulguları gösteren Kortikal alveolar oosit. Zona Radiata (ZR), Kortikal Alveol (Ca), Zona Radiatada Distorsiyon ve düzensiz görünüm (Siyah yıldız), ooplazma ve zona radiata arasında açılma (Mavi Yıldız), Nükleer Bozulma (Sarı Yıldız). (x40 büyütme, H&E).



Şekil 4.20. (A): $0,75 \mu\text{g L}^{-1}$ Abamektin uygulanan ovaryum dokusu. Zona Radiata ve Foliküler Epitelin ortadan kalktığı, besin granüllerinin tamamen sindirildiği ileri evrede atretik folikül yapısı (AO*), İntertisyel alanda artış (Mavi yıldız), Primer Oosit (PO), Vitellojenik Oosit (VO), Düzensiz Membranlı Atretik Oosit (AO), ZR-Fe arası Açılma (PembeYıldız), Zona radiatada Kalınlaşma (İki uçlu siyah ok). (x10 büyütme, H&E). **(B):** $0,75 \mu\text{g L}^{-1}$ Abamektin uygulanan ovaryum dokusu. Vitellojenik Oosit (V), Kortikal Alveol (Ca), Zona Radiata (ZR)'da kalınlaşma (iki uçlu siyah ok), Zona Radiatada Distorsiyon (Siyah Yıldız), Zona radiata ve ooplazma arasında açılma (mavi yıldız). (x40 büyütme, H&E).



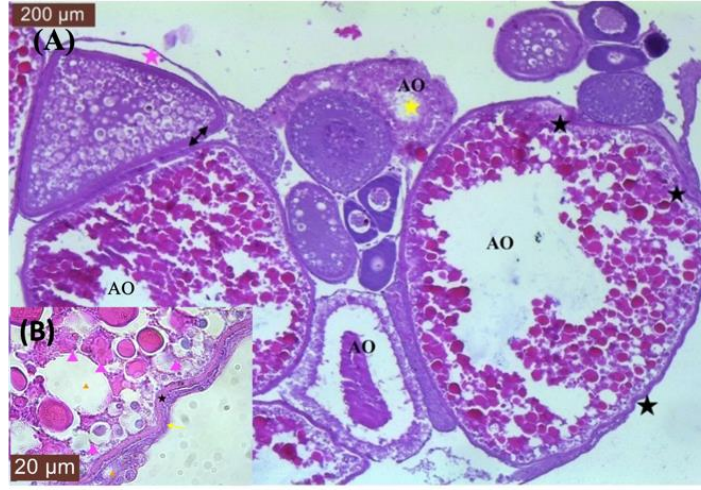
Şekil 4.21. (A): $0,75 \mu\text{g L}^{-1}$ Abamektin uygulanan ovaryum dokusu. Atretik Oosit (AO), Ooplazma (O), Bağ Doku (Bd), Foliküler Epitel (Sarı ok), Nükleer Bozulma (Sarı yıldız), Zona Radiata ve ooplazma arası açılma (Mavi yıldız), Kortikal alveollerde bozulma (Pembe Üçgen), Bağ dokuda fibroblast hücreleri (Fb). (x40 büyütme, H&E). **(B):** $0,75 \mu\text{g L}^{-1}$ Abamektin uygulanan ovaryum dokusu. Zona Radiata ve Foliküler Epitelde Açılma (Pembe yıldız), Atretik oosit (AO), Zona Radiata (ZR), Foliküler Epitel (Fe), İntertisyel alanda eritrosit hücreler (Er). (x100 büyütme, H&E).



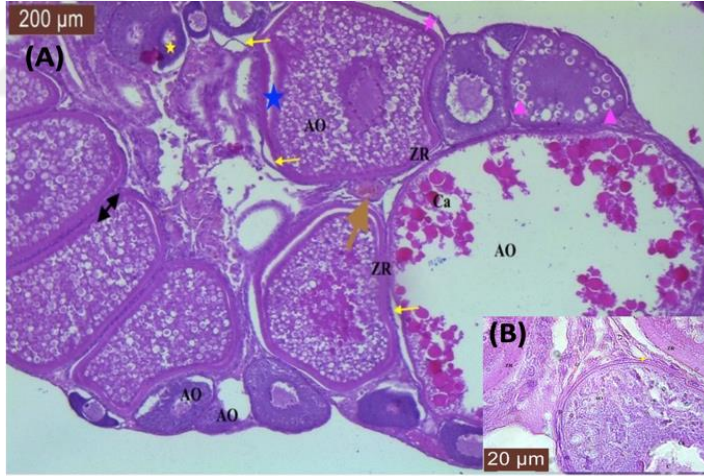
Şekil 4.22. 0,75 $\mu\text{g L}^{-1}$ Abamektin uygulanan ovaryum dokusu. Kalınlaşmış Zona Radiata, Foliküler Epitel (Fe), Kortikal Alveol (Ca), Atretik (AO). (x100 büyütme, H&E).

4.1.2.3. 1,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ Abamektin'e maruz kalan ovaryum dokusu

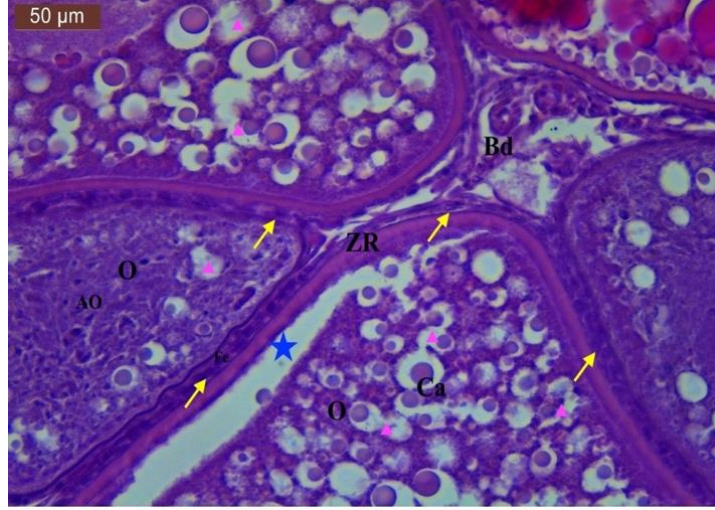
Uygulanan dozun artışı ile ilişkili olarak zebra balığı ovaryum dokusunda gözlenen histopatolojik değişikliklerde de artış gözlemlendi. Bu doz grubunda, intertisyel alanda boşlukların genişlediği kaydedildi. Zona radiata bölgesinde kıvrımlar ve dalgalanmalar meydana geldiği belirlendi (Şekil 4.23, Şekil 4.26). Bazı oositlerde vitellogenenezin azaldığı görüldü. Atretik folikül formasyonu gözlemlendi (Şekil 4.23, Şekil 4.24, Şekil 4.25, Şekil 4.26). Ooplazmada vakuolizasyon ile birlikte dejenerasyona uğramış folikül oluşumu tespit edildi (Şekil 4.23, Şekil 4.26). Zona radiata ile foliküler epitel arasında ayrılmaların olduğu (Şekil 4.24), bazı bölgelerde zona radiatanın kalınlığının arttığı (Şekil 4.23, Şekil 4.26), yapısının bozulduğu, ooplazma içine invaginasyon sergilediği görüldü.



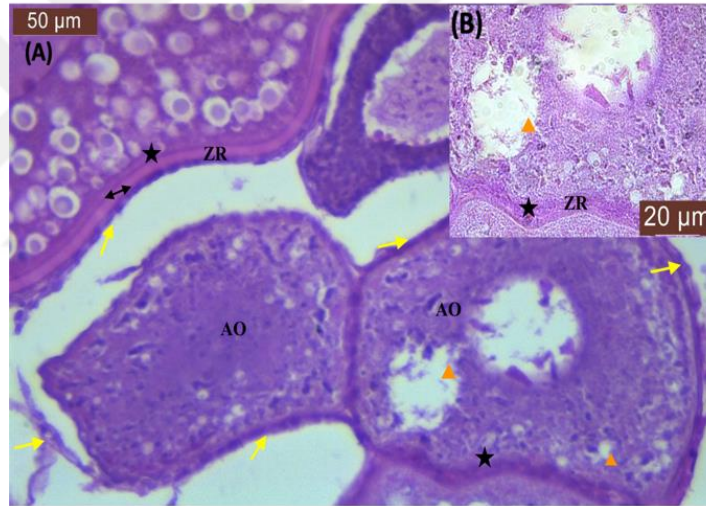
Şekil 4.23. $1.5 \mu\text{g L}^{-1}$ Abamektin uygulanan ovaryum dokusu. **(A):** Atretik oosit (AO), Zona Radiata (ZR), Kortikal Alveol (Ca), Foliküler Epitel (Sarı ok), Ooplazma- ZR arası açılma (Mavi Yıldız), Nükleer Bozulma (sarı yıldız), Zona radiatada kalınlaşma (İki uçlu siyah ok), Kortikal alveolde bozulma (Pembe Üçgen), Hemoraji (Kahverengi ok). (x10 büyütme, H&E). **(B):** Zona Radiata (ZR), Folikül Epiteli (Sarı ok), Zona radiata distorsiyon (Siyah yıldız), Folikül epitelinde ve ooplazmada vakuolizasyon (Turuncu üçgen), Kortikal granül yapılarında bozunma (Pembe üçgen). (x100 büyütme, H&E).



Şekil 4.24. **(A):** $1.5 \mu\text{g L}^{-1}$ Abamektin uygulanan ovaryum dokusu. Atretik oosit (AO), ZR de kalınlaşma (iki uçlu siyah ok), Nükleer Bozulma (sarı yıldız), Kanlanma (Kahverengi ok), ZR'da Distorsiyon (Siyah yıldız), ZR-Fe arası açılma (Pembe Yıldız). (x10 büyütme, H&E). **(B):** Atretik Oosit yapısı. Zona Radiata (ZR), Foliküler Epitel (Sarı ok), Çekirdek (Ç), Çekirdekcik (Çk). (x100 büyütme, H&E).



Şekil 4.25. 1.5 µg L⁻¹ Abamektin uygulanan ovaryum dokusu. Atretik Oosit (AO), Zona Radiata (ZR), Bağ doku (Bd), Ooplazma (O), Kortikal Alveol (Ca), Foliküler Epitel (sarı ok), Kortikal alveolde bozulma (pembe üçgen), ooplazma-ZR arası açılma (Mavi yıldız). (x40 büyütme, H&E).

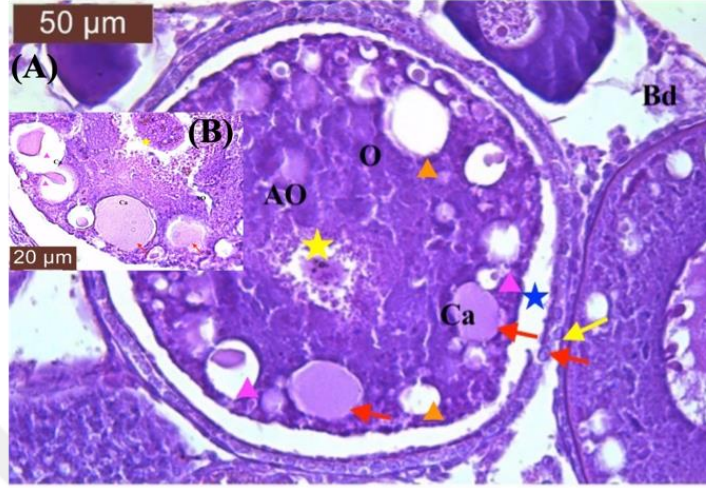


Şekil 4.26. 1.5 µg L⁻¹ Abamektin uygulanan ovaryum dokusu. **(A):** Primer oosit (PO), Tüm bileşenleri bozulmuş Atretik oosit (AO), Zona Radiat (ZR), Kortikal alveol (Ca), Zona Radiatada kalınlaşma (İki uçlu siyah ok), Foliküler epitel (sarı ok), Vakualizasyon (Turuncu üçgen), ZR’ da distorsiyon (Siyah yıldız), (x40 büyütme, H&E). **(B):** Atretik Oosit. Vakualizasyon (turuncu üçgen), Zona Rasiata (ZR), ZR’de distoriyon (siyah yıldız). (x100 büyütme, H&E).

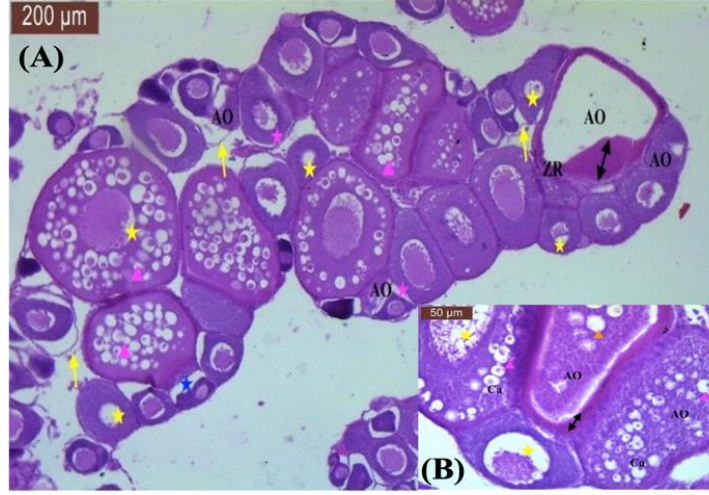
4.1.2.4. 3 µg L⁻¹ Abamektin’e maruz kalan ovaryum dokusu

Abamektinin doz miktarındaki artışa bağlı olarak ovaryum dokusunda histopatolojik bulgulara da artış görüldü. Olgun ve vitellojenik oositlerin sayısında azalma gözlemlendi. Bazı oositlerin zona radiata bölgesinde kalınlaşma (Şekil 4.28), bazı oositlerde vakuolizasyon belirlendi (Şekil 4.28, Şekil 4.29). Ek olarak, zona radiatada kıvrımlar da saptandı. Kortikal alveollerde hipertrofi ve yapısal bozulma kaydedildi (Şekil 4.27,

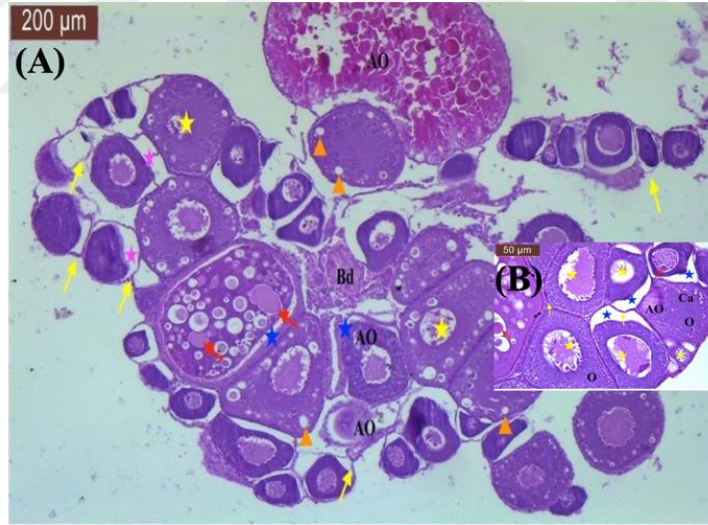
Şekil 4.28, Şekil 4.29, Şekil 4.20). Hücre çekirdeklerinde küçülme ve nükleer bozunma izlendi (Şekil 4.27, Şekil 4.28, Şekil 4.30). Bunlara ek olarak, atretik folikül formasyonu ve azalmış vitellogenenez, gözlenen diğer değişiklikler arasında yer aldı (Şekil 4.27, Şekil 4.28, Şekil 4.29, Şekil 4.30).



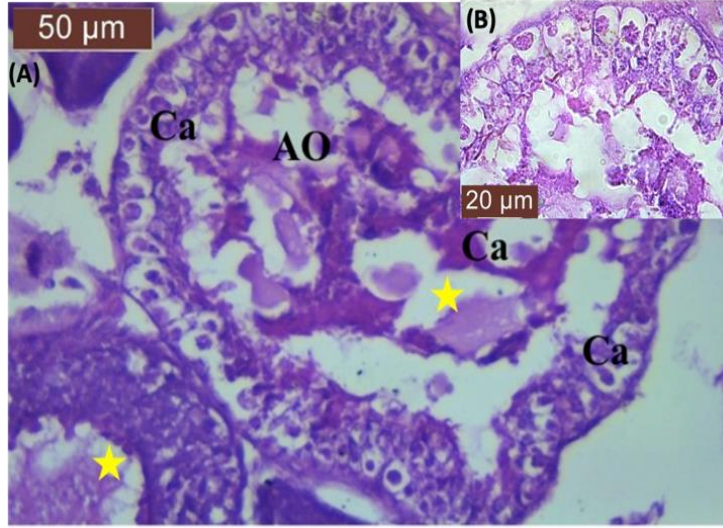
Şekil 4.27. 3 µg L⁻¹ Abamektin uygulanan ovaryum dokusu. **(A):** Atretik oosit (AO), Ooplazma (O), Kortikal Alveol (Ca), Foliküler epitel (sarı ok), Nükleer bozulma (Sarı yıldız), Kortikal alveolde hipertrofi (kırmızı ok), ooplazma – ZR arası açılma (Mavi yıldız). (x40 büyütme, H&E). **(B):** Kortikal Alveolde (Ca), kortikal alveolde Hipertrofi (Kırmızı ok), Kortikal Alveolde bozulma (Pembe üçgen), Atretik oosit (AO), Nükleer bozulma (sarı yıldız). (x100 büyütme, H&E).



Şekil 4.28. 3 µg L⁻¹ Abamektin uygulanan ovaryum dokusu. **(A):** Zona Radiata (ZR), Kalınlaşma (iki uçlu siyah ok), ZR- Fe arası açılma (pembe yıldız), ZR-ooplazma arası açılma (mavi yıldız), Foliküler epitel (sarı ok), nükleer bozulma (sarı yıldız), Kortikal alveolde bozulma (Pembe üçgen), Atretik oosit (AO). (x10 büyütme, H&E). **(B):** 3 µg L⁻¹ Abamektin uygulanan ovaryum dokusu. Atretik oosit (AO), Kortikal Alveol (Ca), Nükleer bozulma (Sarı yıldız), ZR'de kalınlaşma (iki uçlu siyah ok), kortikal alveolde bozulma (pembe üçgen), kortikal alveolde vakualizasyon (turuncu üçgen). (x40 büyütme, H&E).



Şekil 4.29. **(A):** 3 µg L⁻¹ Abamektin uygulanan ovaryum dokusu. Atretik oosit (AO), Bağ doku (Bd), nükleer bozulma (Sarı yıldız), Vakualizasyon (turuncu üçgen), Foliküler epitel (sarı ok), ooplazma- ZR arası açılma (Mavi yıldız), ZR- Fe arası açılma (pembe yıldız), kortikal alveolde bozulma (pembe üçgen), Kortikal Alveollerde Hipertrofi (kırmızı ok). (x10 büyütme, H&E). **(B):** 3 µg L⁻¹ Abamektin uygulanan ovaryum dokusu. Atretik kortikal alveolar oosit. Bağ doku (Bd), ooplazma (O), Nükleer bozulma (Sarı üçgen), Vakualizasyon (Turuncu üçgen), kortikal alveolde bozulma (pembe üçgen), ooplazma-ZR arası açılma (mavi yıldız), Foliküler epitelde (Sarı ok) kortikal alveolde Hipertrofi (kırmızı ok). (x40 büyütme, H&E).



Şekil 4.30. $3 \mu\text{g L}^{-1}$ Abamektin uygulanan ovaryum dokusu. **(A):** Zona Radiatanın ortadan kalktığı, kübik foliküler hücrelerin görüldüğü ilerlemiş foliküler atrezi. Atretik oosit (AO), kortikal alveol (Ca), Kortikal alveolde bozulma (pembe üçgen), nükleer bozulma (sarı yıldız), (x40 büyütme, H&E). **(B):** Foliküler atrezi. (x100 büyütme, H&E).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Balıklardaki üreme potansiyeli üzerine yapılan çalışmalar içerisinde histopatolojik değerlendirmeler büyük yer kaplamaktadır. Sucul ortamlarda görülen kirlilik düzeyi ile bu çevrede yaşayan canlıların üreme kapasiteleri arasında paralellik görülmüştür. Çevresel kirleticilerin sebep olduğu etki, kirletici maddenin artan konsantrasyonuna ve maruziyet süresine bağlı olarak, gonadlarda hasarın düzeyini etkilemektedir. (Önen ve Üçüncü, 2015).

Zebra balıklarında, Avermectin ailesinden olduğu bilinen Abamektin ($0,75 \mu\text{g L}^{-1}$, $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$ ve $3 \mu\text{g L}^{-1}$) maruziyetinden sonra, ovaryum dokusunda oositlerde deformasyon, atretik folikül oluşumu ve doz artışına paralel olarak foliküler atrezi düzeyinde artış; testis dokusunda ise, spermatogenik hücre kümelerinde azalma, fibrosis, apoptotik ve piknotik görünümlü hücrelerde artış gibi doku geneline yayılan atrofi bulguları gözlenmiştir. Uygulanan dozlar zebra balığı ile yapılan çalışmalar baz alınarak belirlenmiştir (Tişler ve Erzen, 2006, Novelli ve ark. 2012).

Hidrolize olmaya karşı kısmen kararlı bir bileşik olan Abamektin, direk ışığa maruz kaldığı durumlarda oksidatif ve foto oksidatif mekanizmalarla ortamdaki ayrışabilir (toprak yüzeyinde fotoliz yarılanma süresi 21 saat) (US EPA, 2010). Ulaşılabilen çalışmalarda, Abamektinin canlılar üzerinde zarar verici etkiler gösterdiği görülmüştür. Abamektinin toprak solucanları ve kuşlar üzerindeki toksisitesinin düşük olduğu gözlenmiştir (Halley ve ark., 1993). Abamektinin (Birleşik Krallık-Almanya ortak belgesi) (Ewence ve ark., 2015) insanlar üzerinde endokrin sistem işleyişini olumsuz yönde etkileme olasılığının yüksek olduğu bildirilmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada; zebra balığı üzerinde polietilen mikroplastik ve Abamektinin birlikte maruziyetinin, kirleticilere teker teker maruz bırakılmasından daha fazla toksik olduğu ve hayatta kalma oranında düşüşe sebep olduğu bildirilmiştir. Zebra balığı larvalarında reaktif oksijen türlerinde (ROS), lipid peroksidasyonunda, apoptozda ve antioksidan yanıtta bozulmada önemli bir artış gözlemlendiği ve zebra balığının gözlerindeki morfolojik değişikliklerin, tekli maruziyete kıyasla, ikili uygulanan grupta önemli ölçüde arttığı fark edilmiştir. Ayrıca; polietilen mikroplastik

ve Abamektine birlikte maruziyet sonrası bax ve p53 (spesifik apoptoz genleri) ekspresyonunun önemli ölçüde arttığına dikkat çekilmiştir (Guru ve ark., 2023). Yapılan bir başka çalışmada, 96 saat Abamektine maruz kalan yetişkin zebra balıklarında piknotik çekirdek oluşumu, dejenere olmuş hepatositler ve sitoplazma düzensizliği göze çarpmıştır (Dos Santos ve ark., 2023).

Abamektin gibi pestisit türevlerinin, sucul ortamda yaşayan canlıların üremesi üzerinde olumsuz etkileri yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Pestisitlerin zebra balığı üreme organları üzerindeki histopatolojik etkileri üzerine yapılan farklı çalışmalara ulaşılmıştır. Han ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada, yaygın kullanılan pestisit türlerinden biri olan, Endosülfan maruziyeti sonucunda dişi zebra balığında atretik foliküllerde artış, vitellogeniz sürecinde gerileme, zona radiatada katlanma ve foliküler epitel hücrelerinde hipertrofi gibi dejeneratif değişikliklerin gözlemlendiği belirtilmiştir. Wu ve ark. (2018) çalışmasında da, bir insektisit olan Spirotetramat maruziyetinin, zebra balığında oositlerin çapında ve yüksek dozda oosit olgunlaşmasında düşüşe sebep olduğu bildirilmiştir.

Zhang ve ark. (2020) e göre, Spirotetramat yetişkin zebra balığı ovaryum dokusunda interstisyel lenfosit infiltrasyona, vitellojenik oosit displazisine, vitellojenik oosit atrezisinde artışa, interstisyel kanamaya ve yağ infiltrasyonu gibi önemli histopatolojik lezyonların ortaya çıkmasına sebep olmuştur. Çalışma sonucunda, folikül epitel hücrelerinin büyük bir çoğunluğunda apoptoz meydana geldiği görülmüştür. Yüksek stabilitesine bağlı olarak en sık tespiti yapılan Asetoklor herbisiti, zebra balıklarında (uygulanan düşük ve orta dozlarda) vitellojenik oosit sayısının artmasına ve kortikal alveolar oosit sayısının azalmasına neden olurken, yüksek dozda oosit gelişimini inhibe edici etki göstererek atretik oosit sayısında artış meydana getirmiştir (Zhang ve ark., 2020). Çalışmamızda yüksek dozda foliküler atrezinin artışı bu çalışma ile paralellik göstermektedir. Ancak, düşük dozda kullandığımız herbisit türü, Asetoklor gibi ovaryum gelişimini destekleyici etki göstermemiştir. Maharajan ve ark. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, geniş spektrumlu bir insektisit olan Pirioksifen'in düşük dozlarında zebra balığı ovaryum dokusunda olumsuz bir etki göstermediği, doz artışına bağlı olarak vitellojenik oositlerde sayıca azalmaya neden olduğu görülmüştür. Yoğun olarak kullanımı görülen deltametrin maruziyeti, dişi zebra balığı ovaryumunda foliküler epitelin zona radiatadan ayrılmasına, membran katlanmasına, oositlerde vakuolizasyona ve olgun oosit ooplazmasında parçalanmaya, çekirdek

dejenerasyonuna, oositler arası alanda fibroze, granüloza hücrelerinde hipertrofiye, atretik oosit sayısında artışa neden olmuştur (Petrovici ve ark., 2020). Deltamethrinin ovaryum üzerinde gösterdiği bu histopatolojik etkiler, çalışmamızda karşımıza bulgularla yüksek düzeyde benzerlik göstermektedir.

Dişi zebra balığında oositlerde dejenerasyona, doz artışına bağlı olarak atretik oosit sayısında artışa, zona radiatada kalınlaşma olmasına sebep olan bir başka kirleticinin de Imidacloprid olduğu görülmüştür (Akbulut, C., 2021).

Jiang ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada, Tebukonazol ve Difenokonazolün zebra balığında perinükleolar oosit ve kortikal alveolar oosit oranını arttırdığı, vitellojenik oosit oranını azalttığı tespit edilmiştir. Chen ve ark. (2022) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise, Difenokonazol' ün zebra balığı ovaryumunda primer oosit ve vitellojenik oosit sayısında azalmaya sebep olduğu belirtilmiştir. Her iki çalışmada elde edilen bulgular benzerdir. Bizim çalışmamızda da düşük dozlarda primer oosit sayısında artış, gelişen oositlerin sayısında düşüş gözlenmiştir. Bu iki çalışmadan farklı olarak, çalışmamızda doz oranı arttıkça foliküler atrezide de artış belirlenmiştir. Patojenik mantarların istilasını önlemek amacı ile kullanılan Siprodinilin'in de, zebra balığı ovaryum dokusunda primodiyal folikül oranında azalmaya, olgun foliküllerde ve yumurta üretiminde artışa neden olduğu belirlenmiştir. Gonadotropin ve testosteron seviyelerinde de artış gözlenmiştir (Tang ve ark., 2022). Sutha ve ark. (2022) tarafından yapılan çalışmada, Tris (2-kloroetil) fosfatın dişi zebra balığında oositlerde vakuol oluşumuna, vitellojenik oosit membranında kalınlaşmaya ve vitellüs oranı azalmış dejenere oosit oluşumuyla da atretik oosit sayısında artışa neden olduğu görülmüştür. Elde edilen bulgular çalışmamızla benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda Abamektin toksisitesi sonucunda oosit yapılarında benzer bulgularla karşılaşılmıştır. Çalışmamızda da doza bağlı olarak ovaryumda foliküler atrezi oranının arttığı belirlenmiştir. Her iki çalışmanın da bulguları uyumludur. Duan ve ark. (2022) tarafından yapılan başka çalışmada ise, pirinç tarlalarında kullanılan Cyhalofop-butilin, ovaryum dokusunda düşük dozda herhangi bir olumsuz etki göstermediği, doz artışı ile folikül epiteli ile zona radiata arasında belirgin bir açılmanın meydana geldiği belirtilmiştir. Çalışmamızda, doz düzeyine paralel olarak folikül epitel hücreleri ve zona radiata arasında belirgin açıklık, zona radiatada distorsiyon, yapısal dejenerasyon gözlenmiştir. Tang ve ark. (2022) Sipronidil pestisitinin uygulanmasıyla, dişi zebra balığında düşük dozlarda primer ve

kortikal alveolar oosit oranında azalmaya, olgun oosit oranında ise doza bağılı artışa neden olduğu, diğerk pestisitlerden farklı etki göstererek, anormal yapıda ovaryum gelişimine sebep olduğu belirtilmiştir. Abamektin toksisitesini belirlemek amacı ile yaptığımız çalışmada olduğu gibi, Diazinon'a maruz kalan dişi zebra balığında da genel olarak oosit gelişiminde azalma gözlenirken, yüksek dozlarda atriyal ve hiperplazik foliküller gözlenmiştir (Darvishi ve ark., 2022). Karbamat türü bir insektisit olan Karbofuran ile kadmiyum ikilisi, zebra balığı oositlerinde zona radiata ile folikül epiteli arasında temas kaybına, oositlerde atreziye, vakuolizasyona, vitellojenik oositlerde yapısal bozulmaya neden olarak oosit gelişimine engel olmuştur (Wang ve ark., 2022). Abamektin maruziyeti bu çalışmada olduğu gibi, zebra balığı oositlerinde benzer bulguların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Kombinasyon çalışılan bir deneyde; imidacloprid, acetochlor ve tebuconazol'un birlikte uygulanması sonucunda; doz artışıyla zebra balığı oositlerinde vakuolar hasara neden olarak gonad gelişimini olumsuz şekilde etkilediği görülmüştür (Yang ve ark., 2022).

Zhang ve ark. (2024) tarafından yapılan çalışmada, bitki hastalıklarını önlemede kullanılan bir kimyasal olan Fenazin-1-karboksilik asit (PCA)'in zebra balığı ovaryum dokusunda çekirdekte parçalanmaya, az sayıda oositte nekroza, foliküllerin hacimlerinde azalmaya ve genel olarak folikül atrofisine neden olduğu ortaya konulmuştur. Atretik folikül ve nekrotik alan oluşumu açısından çalışmamızla ortak bulguların olduğu söylenebilir. Trifloksistrobinin, zebra balığı ovaryumunda, kortikal alveol oosit ve perinükleolar oosit oranında azalma, erken vitellojenik oosit ve geç vitellojenik oosit oranında artmaya neden olduğu belirtilmiştir. Zebra balığında paraben türevlerinin ise (etilparaben, etilparaben, propilparaben ve bütılparaben) nekrotik oositlerin sayısında artma ve olgun oosit sayısında azalmaya neden olduğu görülmüştür (Wei ve ark., 2024). Önemli çevre kirleticileri arasında yer alan Tribütılın zebra balığı ovaryum dokusunda, olgun oosit sayısında azalma, vitellogenik oosit sayısında artma, primer oositlerde anlamlı olmayan bir şekilde artma meydana getirdiği bildirilmiştir (Delvadia ve ark., 2024). Bu çalışmalara paralel olarak bulunduğumuz sonuçlar arasında oositte nekrotik alan oluşumu, atrofik oosit sayısında artış, olgun oosit sayısında azalma ve primer oositlerde anlamlandırılmayan bir sayısal artışın olduğu görülmüştür. Bir fungusit türü olan Boskalit, dişi zebra balığında ovaryum dokusunda intertisyel hemosideroz (demir düzeyinin yükselmesi), inflamatuvar hücre infiltrasyonuna neden olurken, erkek zebra balıklarında testis

dokusunda lezyona, Sertoli hücrelerinde lizize, kısmi olarak dejenerasyona, intertisyel dokuda genişlemeye neden olmuştur (Qian ve ark., 2020).

Manjunatha ve Philip. (2016), Klorprifos'un erkek zebra balıklarında vitellogenin artışına sebep olduğunu ve gonadlarda yapısal hasar verdiğini, testis dokusunda vakualizasyon ve seminifer tübüllerde morfolojik değişiklikler oluşturduğunu belirlenmiştir. Endothal'e maruz kalan zebra balığı testis dokusunda ise çalışmamızla ortak olan; seminifer tübüllerde vakualizasyon, bağ dokuda fibrosis ve hemoraji, azalan spermatogonik hücreler görülmüştür (İşel, 2019).

Gürol ve ark. (2020), Mancozeb'in erkek zebra balıklarının seminifer tübüllerinde morfolojik değişim, spermatositlerde hipertrofi, vakualizasyon, azalan spermatogonik hücre kümeleri ve hemoraji görüldüğünü bildirmiştir. Bu bulgular çalışmamızda vardığımız sonuçlarla eş değerdir. N-Nitrozo-N-Etilüre (ENU) maruziyeti sonunda zebra balığı testis dokusu histopatolojisi çalışılan başka bir çalışmada seminifer tübüllerde morfolojik değişiklikler ve bütünlükte bozulma, üreme hücrelerinde azalma, vakualizasyon, bağ dokuda hemoraji ve bazı hücrelerde de hipertrofi ve piknotik çekirdek oluşumu gözlenmiştir (Yılmaz, 2020). Tüm bu bulgular çalışmamızla ortaktır. Yapılan bir başka çalışmada, İmidakloprid'in testis dokusunda seminifer tübül dejenerasyonu, Leydig hücrelerinde hipertrofi ve intertisyel fibrosis tespit edilmiştir (Akbulut, 2021). Elde edilen bulgular çalışmamızda görülenlerle benzerdir.

Bir fungusit türü olan Difenokonazol zebra balığı testis dokusunda sperm ana hücrelerinin yüzdelерinin artmasına, Tebukonazol ve bu iki fungusit türevinin karışımı ise spermatosit hücrelerinin yüzdelерinin azalmasına neden olmuştur (Jiang ve ark., 2021). Çevresel kirleticiler arasında yer alan ince parçacıklı maddeye (PM2.5) maruz kalan erkek zebra balıklarında ise, dejenere spermatogonik hücre kümelerinin varlığı, intertübüler alanda kanama ve vakuolizasyon, sperm hücrelerinde azalma, fibrozis ve bazı seminifer tübüllerde füzyon tespit edilmiştir (Manjunatha ve ark., 2022). Sigara ve egzoz gazlarında yoğun olarak karşımıza çıkan Benzopiren uygulamasına bağlı olarak zebra balıklarında spermatozoa yüzdesinin önemli ölçüde azaldığı, spermatosit yüzdesinin de arttığı belirtilmiştir (Xu ve ark., 2023). Bu bulgulardan farklı olarak yaptığımız çalışmada spermatosit kümelerinde azalma olduğu görülmüştür. Hu ve ark. (2024) göre ise, Zinc Pyrithione (ZPT) zebra balığında hem sperm kalitesini hem de miktarını olumsuz yönde etkilemektedir. Bu kimyasal testis dokusunda oksidatif

hasara neden olurken, apoptozu indüklemekte ve mitokondriyal membran potansiyelinin azalmasına sebebiyet vermektedir. Zebra balığında Taufluvalinate maruziyetinin çalışıldığı başka bir çalışmada, seminifer tübüllerde morfolojik bozulma, spermatogenik hücrelerde hipertrofi ve yapısal bozulma, apoptoz belirlenmiştir (Öztürk ve ark. 2024). Çalışmamızda da seminifer tübül sınırlarında bozulmalar, üreme hücrelerinde bozulma ve apoptozun yanında hipertrofi de gözlenmiştir.

Wang ve ark., (2024) Permetrinin erkek zebra balıklarına etkisinin araştırmış, zebra balıklarının büyümesinin baskılandığı, testis histolojisinde morfolojik değişikliklere, inflamasyon, üreme stresine, ferroptoz (Non-apoptotik demir bağımlı hücre ölümü) sebep olduğu ve oksidatif stresi arttırdığı sonuçlarına ulaşmıştır. Zhang ve ark., (2024) tarafından yapılan başka bir çalışmada 17 β -Estradiol (E2)'ün zebra balıkları gonadlarında oluşturduğu toksikolojik etkiler incelenmiştir. Dişilerde yumurtanın olgunlaşmasını engellediği görülen bu kimyasalın, erkeklerde ise sperm olgunlaşması ve hareketliliğini azalttığı fark edilmiştir. Nezzi ve ark., (2024) tarafından yapılan çalışmada; tarımda herbisit olarak kullanılan Roundup WG'nin, zebra balıkları üzerinde etkisi incelenmiş ve testis dokusunda Sertoli hücrelerinin uzantılarında farklılaşmalar olduğu fark edilmiştir.

Abamektin'in *Cyprinus carpio* üzerinde kronik toksisitesini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, Abamektin'in üç subletal konsantrasyonuna (0.05, 0.07 ve 0.09 μ g/L) 3 ve 6 hafta süreyle maruz bırakıldıktan sonra histopatolojik etkileri incelenmiştir. Solungaçta hiperplazi, kanlanma, ödem, nekroz görülürken, karaciğerde dejeneratif hepatosit ve hücresel şişme görülmüştür. Kaslardaki histolojik değişiklikler ise kas atrofisi ve nekroz olarak belirlenmiştir (Mohammed ve ark., 2017). Vajargah ve ark. (2017) ise, *Cyprinus carpio* türüne Abamektin (2 ppm, 3 ppm, 6 ppm) maruziyetinde bağırsakta villus yıkımına ve epitel dejenerasyonuna, karaciğerde hücre yıkımına, kanama ve nekroz oluşumuna sebep olduğu bildirilmiştir. *Oreochromis niloticus* ve Abamektin toksisitesinin incelendiği bir çalışmada 21 gün subletal konsantrasyona maruz kalan balıklarda hepatosit dejenerasyonu, kan damarlarında tıkanıklık ve bazı böbrek tübüllerinde değişiklikler meydana geldiği görülmüştür (Hendawy ve ark., 2024).

Avermektinler arasında, ivermektin ve Abamektin endokrin bozucu etkileri sıçan türlerinde incelenmiştir. Abamektin'in sıçanlarda oral ve inhalasyon yolu ile toksisite

değerleri LD50: 10 mg/kg (Merck, 1989), LC50: 1100 mg/m³/4H (Defense des Vegetaux., 1988) olarak rapor edilmiştir. Abd-Elhady ve ark. (2013)'na göre Abamektin uygulanan erkek albino sıçanların testis dokusunda bazı spermatogonyum hücrelerinde dejenerasyon, peritübüler ödem, spermatogenetik hücre sayısında azalma meydana gelmiştir. Kandil (2015)'e göre, Abamektin maruziyeti sonucunda, sıçan ovaryum dokusunda 3. Gün medullar kan damarları gözlenmiş, 7. Günde medüller kısmında intertisyel stromal hücreler tespit edilmiştir. Ayrıca ovidukta, mukozal epitelde hücresel hipertrofi izlenmiştir. Subletal dozda Abamektin'e maruz bırakılan erkek albino sıçanlarda cinsiyet hormonlarında önemli değişiklikler olduğunu belirtmiştir. (Nassar, 2016).

Yaptığımız bu çalışma, tarımda kaliteli ürün eldesi amacı ile kullanılan Abamektin'in üreme üzerine olumsuz etkilerinin olduğunu göstermektedir. Abamektin, zebra balığı (*Danio rerio*) ovaryum ve testis dokuları üzerinde üreme potansiyelini engelleyici seviyede, cinsiyet hücrelerinin yapısal özelliklerini bozarak histopatolojik bulguların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Çalışmamızda testis dokusu incelendiğinde; seminifer tübül sınırlarının belirsizleşmesi, bütünlüğün bozulması, üreme hücrelerinde dejenere yapı, Leydig hücrelerinde hipertrofi, apoptoz ve piknotik çekirdek oluşumu, intertisyel alanda fibrosis ve nekrotik alan oluşumu, ovaryumlarda ise atretik oosit sayısındaki artış, oositlerde vakualizasyon, kortikal alveollerde ve Leydig hücrelerinde hipertrofi, apoptotik hücre ve piknotik çekirdek oluşumu, vitellojenik oositlerde yapısal bozulmalar gibi bulgular söz konusudur. Elde edilen bu bulgular göz önüne alındığında Abamektin'in spermatogenez ve oogeneze sürecine hasar verdiği yorumu yapılabilmektedir. Bu maddenin kullanımı, doğaya karışması ve canlı organizmalara karşı olası etkilerinin engellenebilmesi için kullanımının kontrol altına alınması gerektiği düşünülmektedir. Özellikle balıklar için toksik olduğu birçok çalışmayla desteklenen Abamektin'in, zebra balıklarında da üreme toksisitesi oluşturma potansiyeli görülmektedir. Bu sebeple yaptığımız bu çalışma; potansiyel olarak insana da zarar verebilecek olan bu kimyasalın etkilerinin daha iyi araştırılması gerektiğini düşündürmektedir.



KAYNAKLAR

- Akashe, M. M., Pawade, U. V., Nikam, A. V. (2018). Classification of pesticides: A review. *Int. J. Res. Ayurveda Pharm*, 9(4), 144-150.
- Akbulut, C. (2012). *Bisfenol a'nın zebra balığı (danio rerio) primordiyal germ hücreleri üzerine olan etkilerinin histolojik ve moleküler yöntemlerle incelenmesi* (Doctoral dissertation, Sakarya Üniversitesi (Turkey)).
- Akbulut, C. (2021). Acute exposure to the neonicotinoid insecticide Imidacloprid of Zebrafish (*Danio rerio*) Gonads: a histopathological approach. In *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology* (Vol. 57, p. 23). EDP Sciences. <https://doi.org/10.1051/limn/2021021>
- Altıkat, A., Turan, T., Torun, F. E., & Bingöl, Z. (2009). Türkiye’de pestisit kullanımı ve çevreye olan etkileri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40(2), 87-92.
- Avdesh, A., Chen, M., Martin-Iverson, M. T., Mondal, A., Ong, D., Rainey-Smith, S., ... & Martins, R. N. (2012). Regular care and maintenance of a zebrafish (*Danio rerio*) laboratory: an introduction. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (69), e4196. doi: 10.3791/4196
- Aytekin, Y., & Yüce, R. (2008). Ovary maturation stages and histological investigation of ovary of the Zebrafish (*Danio rerio*). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 51, 513-522. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132008000300010>
- Bai, S.H., Ogbourne, S., 2016. Eco-toxicological effects of the avermectin family with a focus on abamectin and ivermectin. *Chemosphere* 154, 204–214. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.03.113>
- Campbell, W. C. (1989). Use of ivermectin in dogs and cats. In *Ivermectin and abamectin* (pp. 245-259). New York, NY: Springer New York.
- Chen, X., Zheng, J., Zhang, J., Duan, M., Xu, H., Zhao, W., ... & Xu, Y. (2022). Exposure to difenoconazole induces reproductive toxicity in zebrafish by interfering with gamete maturation and reproductive behavior. *Science of the Total Environment*, 838, 155610. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155610>
- Clelland, E., & Peng, C. (2009). Endocrine/paracrine control of zebrafish ovarian development. *Molecular and cellular endocrinology*, 312(1-2), 42-52. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.04.009>
- Connaughton, M. A., & Aida, K. (1998). Female reproductive system, fish. *Encyclopedia of reproduction*. San Diego: Academic Press. p, 193-205.

- ÇAKICI, Ö., & Üçüncü, S. İ. (2007). Oocyte development in the zebrafish, *Danio rerio* (Teleostei: Cyprinidae). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 24(1), 137-141.
- Darvishi, M., Safari, R., Hoseinifar, S. H., Shabani, A., Dadar, M., Jarayedi, Z., & Paolucci, M. (2022). Sublethal doses of diazinon affected reproductive, immune, and oxidative status in female zebrafish (*Danio rerio*). *Aquaculture Reports*, 22, 100944. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100944>
- Defense des Vegetaux., 42 (249- 250) (41), 1988.
- Delvadiya, R. S., Patel, U. D., Tank, M. R., Patel, H. B., Patel, S. S., & Trangadia, B. J. (2024). Long-term tributyltin exposure alters behavior, oocyte maturation, and histomorphology of the ovary due to oxidative stress in adult zebrafish. *Reproductive Toxicology*, 126, 108600. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2024.108600>
- Dionisio, A. C., & Rath, S. (2016). Abamectin in soils: analytical methods, kinetics, sorption and dissipation. *Chemosphere*, 151, 17-29. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.058>
- Dos Santos, K. P. E., Silva, I. F., Mano-Sousa, B. J., Duarte-Almeida, J. M., de Castro, W. V., de Azambuja Ribeiro, R. I. M., ... & Thomé, R. G. (2023). Abamectin promotes behavior changes and liver injury in zebrafish. *Chemosphere*, 311, 136941. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136941>
- Duan, M., Guo, X., Chen, X., Guo, M., Xu, H., Hao, L., ... & Yang, Y. (2022). Life Cycle Exposure to Cyhalofop-Butyl Induced Reproductive Toxicity in Zebrafish. *Toxics*, 10(9), 495. <https://doi.org/10.3390/toxics10090495>
- Elkouby, Y. M., & Mullins, M. C. (2017). Methods for the analysis of early oogenesis in Zebrafish. *Developmental biology*, 430(2), 310-324. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2016.12.014>
- Ewence, A., Brescia, S., Johnson, I., & Rumsby, P. C. (2015). An approach to the identification and regulation of endocrine disrupting pesticides. *Food and Chemical Toxicology*, 78, 214-220. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.01.011>
- Forouhar Vajargah, M., Ghafari Farsani, H., Gerami, M. H., Hedayati, S. A., & Nezhadheydari, H. (2017). Effects of the prebiotic in reducing histopathological changes and immune response of *Cyprinus carpio* after exposure to abamectin. *Iranian Journal of Toxicology*, 11(6), 21-26.
- França, L. R., Hess, R. A., Dufour, J. M., Hofmann, M. C., & Griswold, M. (2016). The Sertoli cell: one hundred fifty years of beauty and plasticity. *Andrology*, 4(2), 189-212. <https://doi.org/10.1111/andr.12165>
- Genten, F., Terwinghe, E., & Danguy, A. (2009). *Atlas of fish histology*. CRC Press.
- Gerhard, G. S., Kauffman, E. J., Wang, X., Stewart, R., Moore, J. L., Kasales, C. J., ... & Cheng, K. C. (2002). Life spans and senescent phenotypes in two strains of Zebrafish (*Danio rerio*). *Experimental gerontology*, 37(8-9), 1055-1068. [https://doi.org/10.1016/S0531-5565\(02\)00088-8](https://doi.org/10.1016/S0531-5565(02)00088-8)

- Guru, A., Rady, A., Darwish, N. M., Malafaia, G., Arokiyaraj, S., & Arockiaraj, J. (2023). Synergetic effects of polyethylene microplastic and abamectin pesticides on the eyes of zebrafish larvae and adults through activation of apoptosis signaling pathways. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 102, 104215. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2023.104215>
- Güner, U. (2014). Toksikoloji. *Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi*, 2, 186-189.
- Halley, B. A., VandenHeuvel, W. J., & Wislocki, P. G. (1993). Environmental effects of the usage of avermectins in livestock. *Veterinary Parasitology*, 48(1-4), 109-125. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(93\)90149-H](https://doi.org/10.1016/0304-4017(93)90149-H)
- Hamilton, D., & Crossley, S. (Eds.). (2004). *Pesticide residues in food and drinking water: human exposure and risks* (Vol. 2). John Wiley & Sons.
- Han, Z., Jiao, S., Kong, D., Shan, Z., & Zhang, X. (2011). Effects of β -endosulfan on the growth and reproduction of zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30(11), 2525-2531. <https://doi.org/10.1002/etc.646>
- Hou, Y., Liu, X., Qin, Y., Hou, Y., Hou, J., Wu, Q., & Xu, W. (2023). Zebrafish as model organisms for toxicological evaluations in the field of food science. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 22(5), 3481-3505. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13213>
- Høy, T., Horsberg, T. E., & Nafstad, I. (1990). The disposition of ivermectin in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Pharmacology & toxicology*, 67(4), 307-312. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0773.1990.tb00835.x>
- Hsueh, A. J. W. (1994). Ovarian follicle atresia: a hormonally controlled apoptotic pathway. *Endocr Rev*, 15, 1-18.
- Hu, J., Luo, X., Panga, M. J., Appiah, C., Retyunskiy, V., Zhu, L., & Zhao, Y. (2024). Toxic effects and potential mechanisms of zinc pyrithione (ZPT) exposure on sperm and testicular injury in zebrafish. *Journal of Hazardous Materials*, 461, 132575. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132575>
- İşel, Z., (2019). Endothall'ın Zebra Balığı (*Danio rerio*) Testis Dokusu Üzerine Histopatolojik Etkisi (Yüksek Lisans Tezi) Sakarya Üniversitesi.
- Jiang, J., Chen, L., Liu, X., Wang, L., Wu, S., & Zhao, X. (2021). Histology and multi-omic profiling reveal the mixture toxicity of tebuconazole and difenoconazole in adult zebrafish. *Science of The Total Environment*, 795, 148777. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148777>
- Kaipia, A., & Hsueh, A. J. (1997). Regulation of ovarian follicle atresia. *Annual review of physiology*, 59(1), 349-363. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.59.1.349>
- Kandıl, R. A. (2015). Sexual Hormones And Pathological Changes In Female Albino Rats Rattus Norvegicus treated With Abamectin Biocide. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 93.
- Katharios, P., Pavlidis, M., & Iliopoulou-Georgudaki, J. (2004). Accumulation of ivermectin in the brain of sea bream, *Sparus aurata* after intraperitoneal administration. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 17(1), 9-12. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2004.01.003>

- Khan, F. R., & Alhewairini, S. S. (2018). Zebrafish (*Danio rerio*) as a model organism. *Current trends in cancer management*, 27, 3-18.
- Koc, N. D., Teksöz, N., Ural, M., & Akbulut, C. (2012). Histological structure of zebrafish (*Danio rerio*, Hamilton, 1822) testicles. *Elixir Aquaculture*, 46, 8117-8120.
- Koç, N.D., Zebra balığının (*Branchydanio rerio*) primordiyal germ hücrelerinin göç sürecinde deltamethrin uygulamasının etkileri, Marmara Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 2008.
- Langheinrich, U., Hennen, E., Stott, G., & Vacun, G. (2002). Zebrafish as a model organism for the identification and characterization of drugs and genes affecting p53 signaling. *Current Biology*, 12(23), 2023-2028.
- Lawrence, C. (2007). The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review. *Aquaculture*, 269(1-4), 1-20.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.04.077>
- Leal, M. C., Cardoso, E. R., Nóbrega, R. H., Batlouni, S. R., Bogerd, J., França, L. R., & Schulz, R. W. (2009). Histological and stereological evaluation of zebrafish (*Danio rerio*) spermatogenesis with an emphasis on spermatogonial generations. *Biology of reproduction*, 81(1), 177-187.
<https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.076299>
- Lucas-Herald, A. K., & Bashamboo, A. (2014). Gonadal development. *Understanding Differences and Disorders of Sex Development (DSD)*, 27, 1-16.
<https://doi.org/10.1159/000363608>
- Luo, L., Sun, Y. J., Yang, L., Huang, S., & Wu, Y. J. (2013). Avermectin induces P-glycoprotein expression in S2 cells via the calcium/calmodulin/NF- κ B pathway. *Chemico-biological interactions*, 203(2), 430-439.
<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2013.03.009>
- MA, H., Awad, S., & El-Deeb, A. M. (2024). Adverse Effects of Abamectin, Sewage Water and Growth Hormone on Nile Tilapia Fish, *Oreochromis niloticus* L. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, F. Toxicology & Pest Control*, 16(1), 15-38. 10.21608/EAJBSF.2024.339399
- MacMahon, B. (1994). Pesticide residues and breast cancer?. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 86(8), 572-573.
- Maharajan, K., Muthulakshmi, S., Karthik, C., Nataraj, B., Nambirajan, K., Hemalatha, D., ... & Ramesh, M. (2020). Pyriproxyfen induced impairment of reproductive endocrine homeostasis and gonadal histopathology in zebrafish (*Danio rerio*) by altered expression of hypothalamus-pituitary-gonadal (HPG) axis genes. *Science of the Total Environment*, 735, 139496.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139496>
- Manjunatha, B., & Philip, G. H. (2016). Reproductive toxicity of chlorpyrifos tested in zebrafish (*Danio rerio*) Histological and hormonal end points. *Toxicology and Industrial Health*, 32(10), 1808-1816.
<https://doi.org/10.1177/0748233715589445>

- Manjunatha, B., Seo, E., Bangyappagari, D., & Lee, S. J. (2022). Histopathological and ultrastructural alterations reveal the toxicity of particulate matter (PM_{2.5}) in adult zebrafish. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 7, 100135. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2022.100135>
- Menke, A. L., Spitsbergen, J. M., Wolterbeek, A. P., & Woutersen, R. A. (2011). Normal anatomy and histology of the adult zebrafish. *Toxicologic pathology*, 39(5), 759-775. <https://doi.org/10.1177/0192623311409597>
- MERCK. Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals, Merck, 1989.
- Mohammed, A. J., Abdul-Kareem, S., Ajaweed, A. N., Hameed, A. M., & Mahdii, B. A. (2018). Histological changes resulting from the use of sublethal concentrations from insecticide Abamectin in the common carp (*Cyprinus carpio* L. 1758). *Eco Env and Cons*, 24(2), 565-571.
- Nassar, A. M. K. (2016). Comparative endocrine disrupting effects of abamectin and indoxacarb insecticides. *Int. J. Pharmacol. Toxicol*, 4, 89-92. doi: 10.14419/ijpt.v4i1.6125
- Nezzi, L., Davico, C. E., Schramm, H., de Melo, M. S., & Nazari, E. M. (2024). Assessing testicular morphofunctionality under Roundup WG® herbicide exposure in zebrafish. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-13. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-33626-x>
- Novelli, A., Vieira, B. H., Cordeiro, D., Cappelini, L. T. D., Vieira, E. M., & Espíndola, E. L. G. (2012). Lethal effects of abamectin on the aquatic organisms *Daphnia similis*, *Chironomus xanthus* and *Danio rerio*. *Chemosphere*, 86(1), 36-40. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.08.047>
- Oberemok, V. V., Laikova, K. V., Gninenko, Y. I., Zaitsev, A. S., Nyadar, P. M., & Adeyemi, T. A. (2015). A short history of insecticides. *Journal of Plant Protection Research*, 55(3).
- Okuthe, G. E., Hanrahan, S., & Fabian, B. C. (2014). Early gonad development in zebrafish (*Danio rerio*). *African Journal of Biotechnology*, 13(33). 10.5897/AJB2014.13679
- Ospina-Alvarez, N., & Piferrer, F. (2008). Temperature-dependent sex determination in fish revisited: prevalence, a single sex ratio response pattern, and possible effects of climate change. *PloS one*, 3(7), e2837. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002837>
- Önen, Ö., & Üçüncü, S. İ. (2015). Ham petrolün suda çözünebilen kısımlarının *Xiphophorus helleri* heckel, 1848 (Poeciliidae, Teleostei) testis histolojisi üzerindeki etkileri. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilim. Enstitüsü Derg*, 8(1), 59-68.
- Öztürk, C., Akbulut, C., & Ertuğ, N. D. Y. (2024). Histological Disruptive Effects of Tau-Fluvalinate in Zebrafish (*Danio rerio*) Testis. *Environmental Toxicology and Ecology*, 4(1), 1-10. <https://doi.org/10.59838/etoxec.1362835>
- Petrovici, A., Strungaru, S. A., Nicoara, M., Robea, M. A., Solcan, C., & Faggio, C. (2020). Toxicity of deltamethrin to zebrafish gonads revealed by cellular biomarkers. *Journal of marine science and engineering*, 8(2), 73. <https://doi.org/10.3390/jmse8020073>

- Pirasath, S., Nageswaran, B., Vasana Karunasena, R. P., & Gevakaran, M. (2021). Acute abamectin toxicity: a case report. *Toxicology Communications*, 5(1), 66-68. <https://doi.org/10.1080/24734306.2021.1881233>
- Pradhan, A., Khalaf, H., Ochsner, S. A., Sreenivasan, R., Koskinen, J., Karlsson, M., ... & Olsson, P. E. (2012). Activation of NF- κ B protein prevents the transition from juvenile ovary to testis and promotes ovarian development in zebrafish. *Journal of Biological Chemistry*, 287(45), 37926-37938. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.386284>
- Raftery, T. D., & Volz, D. C. (2015). Abamectin induces rapid and reversible hypoactivity within early zebrafish embryos. *Neurotoxicology and Teratology*, 49, 10-18. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2015.02.006>
- Roberts, R. J. (2001). The nutritional pathology of teleosts. *Fish pathology*, (Ed. 3), 347-366.
- Sanches, A. L. M., Daam, M. A., Freitas, E. C., Godoy, A. A., Meireles, G., Almeida, A. R., ... & Espíndola, E. L. G. (2018). Lethal and sublethal toxicity of abamectin and difenoconazole (individually and in mixture) to early life stages of zebrafish. *Chemosphere*, 210, 531-538. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.02>
- Schulz, R. W., de França, L. R., Lareyre, J. J., LeGac, F., Chiarini-Garcia, H., Nobrega, R. H., & Miura, T. (2010). Spermatogenesis in fish. *General and comparative endocrinology*, 165(3), 390-411. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.02.013>
- Selman, K., Wallace, R. A., Sarka, A., & Qi, X. (1993). Stages of oocyte development in the zebrafish, *Brachydanio rerio*. *Journal of morphology*, 218(2), 203-224. <https://doi.org/10.1002/jmor.1052180209>
- Shive, H. R., West, R. R., Embree, L. J., Azuma, M., Sood, R., Liu, P., & Hickstein, D. D. (2010). brca2 in zebrafish ovarian development, spermatogenesis, and tumorigenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(45), 19350-19355. <https://doi.org/10.1073/pnas.1011630107>
- Sutha, J., Anila, P. A., Gayathri, M., & Ramesh, M. (2022). Long term exposure to tris (2-chloroethyl) phosphate (TCEP) causes alterations in reproductive hormones, vitellogenin, antioxidant enzymes, and histology of gonads in zebrafish (*Danio rerio*): In vivo and computational analysis. *Comparative biochemistry and physiology part C: toxicology & pharmacology*, 254, 109263. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2021.109263>
- Tang, C., Zhu, Y., Yang, C., He, C., & Zuo, Z. (2022). Reproductive toxicity of long-term exposure to environmental relevant concentrations of cyprodinil in female zebrafish (*Danio rerio*). *Science of The Total Environment*, 846, 157504. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157504>
- Tiryaki, O., CANHİLAL, R., & HORUZ, S. (2010). Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri. *Erciyes üniversitesi fen bilimleri enstitüsü fen bilimleri dergisi*, 26(2), 154-169.
- Tişler, T., & Kožuh Eržen, N. (2006). Abamectin in the aquatic environment. *Ecotoxicology*, 15, 495-502.

- Tudi, M., Daniel Ruan, H., Wang, L., Lyu, J., Sadler, R., Connell, D., ... & Phung, D. T. (2021). Agriculture development, pesticide application and its impact on the environment. *International journal of environmental research and public health*, 18(3), 1112. <https://doi.org/10.3390/ijerph18031112>
- Uchida, D., Yamashita, M., Kitano, T., & Iguchi, T. (2002). Oocyte apoptosis during the transition from ovary-like tissue to testes during sex differentiation of juvenile zebrafish. *Journal of Experimental Biology*, 205(6), 711-718. <https://doi.org/10.1242/jeb.205.6.711>
- US EPA. Ecological risk assessment evaluating Abamectin for the registration of a new end-use product (Agri-Mek®SC Miticide/Insecticide) for use on almonds, walnuts, apples, avocados, celeriac, citrus, cotton, cucurbit, fruiting vegetables, grapes, herbs, hops, leafy vegetables, mint, pears, plums, prunes and potatoes. Washington, DC: E.F.a.E. Division; 2010.
- Vural, N. (2005). Toksikoloji. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, 73(381), 504-520.
- Wang, Y., & Ge, W. (2004). Developmental profiles of activin β A, β B, and follistatin expression in the zebrafish ovary: evidence for their differential roles during sexual maturation and ovulatory cycle. *Biology of reproduction*, 71(6), 2056-2064. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.032649>
- Wang, Y., Guo, Y. L., Huo, Y., & Mai, W. (2024), Dietary Lactobacillus Casei Attenuates Testicular Oxidative Stress, Inflammation and Ferroptosis Induced by Environmentally Relevant Concentrations of Permethrin Exposure in Zebrafish Through Modulation of TLR4/NF- κ B and AKT/Nrf2 Pathways. *Inflammation and Ferroptosis Induced by Environmentally Relevant Concentrations of Permethrin Exposure in Zebrafish Through Modulation of TLR4/NF- κ B and AKT/Nrf2 Pathways*.
- Wang, Y., Weng, Y., Lv, L., Wang, D., Yang, G., Jin, Y., & Wang, Q. (2022). Transgenerational effects of co-exposure to cadmium and carbofuran on zebrafish based on biochemical and transcriptomic analyses. *Journal of Hazardous Materials*, 439, 129644. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129644>
- Wang, Yuhuan and Guo, Yi-Lei and Huo, Yu and Mai, Weijun, Dietary Lactobacillus Casei Attenuates Testicular Oxidative Stress, Inflammation and Ferroptosis Induced by Environmentally Relevant Concentrations of Permethrin Exposure in Zebrafish <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4808898>
- Ware, G. W., & Whitacre, D. M. (2004). An introduction to insecticides. *The pesticide book*, 6.
- Wei, F., Yue, H., Wang, B., Cheng, H., & Sang, N. (2024). Endocrine disrupting effects of parabens in zebrafish (Danio rerio): New insights from transcriptomics, metabolomics, and molecular dynamics simulation. *Chemosphere*, 354, 141682. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.141682>
- Wojciechowska, M., Stepnowski, P., & Gołębiowski, M. (2016). The use of insecticides to control insect pests. *Invertebrate Survival Journal*, 13(1), 210-220. <https://doi.org/10.25431/1824-307X/isj.v13i1.210-220>

- Wu, H., Rao, Q., Zheng, J., Mao, C., Sun, Y., Gu, D., ... & Liu, X. (2018). Biochemical and histological alterations in adult zebrafish (*Danio rerio*) ovary following exposure to the tetracycline insecticide spirotetramat. *Ecotoxicology and environmental safety*, 164, 149-154. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.020>
- Wu, T., Patel, H., Mukai, S., Melino, C., Garg, R., Ni, X., ... & Peng, C. (2000). Activin, inhibin, and follistatin in zebrafish ovary: expression and role in oocyte maturation. *Biology of reproduction*, 62(6), 1585-1592. <https://doi.org/10.1095/biolreprod62.6.1585>
- Xu, H., Yi, T., Liu, M., Gao, R., Liu, X., He, J., ... & Chen, X. (2023). Exposure to Benzo (a) pyrene promotes proliferation and inhibits differentiation of stromal cells in mice during decidualization. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 251, 114531. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114531>
- Yang, J., Chang, Y., Zhang, Y., Zhu, L., Mao, L., Zhang, L., ... & Jiang, H. (2022). Combined reproductive effects of imidacloprid, acetochlor and tebuconazole on zebrafish (*Danio rerio*). *Agriculture*, 12(12), 1979. Yang, J., Chang, Y., Zhang, Y., Zhu, L., Mao, L., Zhang, L., ... & Jiang, H. (2022). Combined reproductive effects of imidacloprid, acetochlor and tebuconazole on zebrafish (*Danio rerio*). *Agriculture*, 12(12), 1979. <https://doi.org/10.3390/agriculture12121979>
- Yılmaz, M., (2020). N-Nitroso-N-Etilüre (ENU)'nin Zebra Balığı (*Danio rerio*) Testis Histolojisi Üzerindeki Etkisi. (Yüksk Lisans Tezi) Sakarya Üniversitesi. DOI : 10.29130/dubited.658364
- Yon, N. D., & Akbulut, C. (2013). Follicular epithelium, theca and vitelline envelope formation and structure in vitellogenic oocyte of zebrafish (*Danio rerio*).
- Zhang, J., Qian, L., Wang, C., Teng, M., Duan, M., Zhou, Y., ... & Li, X. (2020). Dysregulation of endocrine disruption, apoptosis and the transgenerational toxicity induced by spirotetramat. *Chemosphere*, 240, 124900. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124900>
- Zhang, Y., Jiang, Y., Sun, Q., Li, M., Chen, S., Liang, J., & Liu, C. (2024). Full sexual maturity-cycle exposure to environmentally relevant concentrations of 17 β -estradiol decreases reproductive capacity of zebrafish. *Journal of Environmental Sciences*, 137, 580-592.
- Zhang, Y., Zeng, H., Zhou, L., Wang, C., Yang, X., & Liu, S. (2024). Integrated histopathology and transcriptome metabolome profiling reveal the toxicity mechanism of phenazine-1-carboxylic acid in zebrafish. *Environmental Pollution*, 344, 123402. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.123402>
- Zhu, X., Yang, J., Su, Q., Cai, J., & Gao, Y. (2005). Selective solid phase extraction using molecularly imprinted polymer for the analysis of polar organophosphorus pesticides in water and soil samples. *Journal of Chromatography A*, 1092(2), 161-169. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.07.037>

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Sevda BAĞDATLI

ÖĞRENİM DURUMU:

- Lisans** : 2011, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü (İngilizce)
- Yükseklisans** : 2024, Sakarya Üniversitesi, Biyoloji Ana Bilim Dalı

TEZDEN TÜRETİLEN ESERLER:

- Bağdatlı, S. (2024, 02, 05). Histopathological Effects of Abamectin Exposure On Zebrafish Testicular Tissue: A Light Microscopy Study [Sözlü Sunum]. 3. Uluslararası Topkapı Kongresi, İstanbul, Türkiye.

DİĞER ESERLER:

Koçak, Ş., Bağdatlı, S., İkican, K., Yön Ertuğ, N. D. (2023). Histopathological Effects of Environmental Pollutants on the Reproductive System of Zebrafish. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 11(4), 2103-2136. <https://doi.org/10.29130/dubited.1182330>