

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TILAPIA NILOTICA'DA HİSTOPATOLOJİK VE BİYOKİMYASAL
DEĞİŞİKLİKLERE NEDEN OLAN PESTİSİT TOKSİSİTESİ ÜZERİNDE
ASKORBİK ASİDİN KORUYUCU VE İYİLEŞTİRİCİ ETKİLERİ

Neslihan KORKMAZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

(BİYOLOJİ ANABİLİM DALI)

DİYARBAKIR
TEMMUZ 2007

TEŞEKKÜRLER

Bu araştırma konusunu bana Yüksek Lisans Tezi olarak veren ve yardımlarını esirgemeyen Proje yürütücümüz Dicle Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Erhan ÜNLÜ' ye, çalışmalarım sırasında her türlü yardımı esirgemeyen danışmanım Sayın Doç. Dr. Elif İpek SATAR' a teşekkür ederim. Ayrıca Kimya Bölümü öğretim elemanlarından Sayın Arş. Gör. Murat YAVUZ , Tıp Fak. Histoloji laboratuvarını kullanmamızı sağlayan Histoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Yusuf NERGİZ ve Laborant Vahdet ERGÜN'e teşekkür ederim. İstatistiksel analizlerin yapılmasında yardımlarını gördüğüm Sayın Yrd. Doç. Dr. Ersin UYSAL'a ve balık temininde yardımları olan Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Mahmut YANAR'a teşekkür ederim.

DÜAPK-06-FF-42 nolu proje ile maddi katkı sağlayarak yardımda bulunan Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığına (DÜBAP) ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Neslihan KORKMAZ

İÇİNDEKİLER

Teşekkürler.....	i
İçindekiler.....	ii
Amaç.....	iii
Özet.....	iv
Summary.....	v
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	8
3. MATERYAL VE METOT.....	10
3.1. Balık örneklerinin temini.....	9
3.2. Deney düzeneklerinin hazırlanması.....	9
3.3. Kimyasalların hazırlanması.....	10
3.4. Diyet hazırlama.....	11
3.5. Histolojik preparatların hazırlanması.....	12
3.6. Biyokimyasal çalışma.....	12
3.6.1. Protein özütlenmesi.....	13
3.6.2. Protein miktar tayini.....	13
3.6.3. Glikojen özütlenmesi.....	14
3.6.4. Glikojen miktar tayini.....	15
4. BULGULAR.....	17
4.1. Histopatolojik Bulgular.....	17
4.1.1. Solungaç.....	17
4.1.1.1. Kontrol grupları.....	17
4.1.1.2. Deney grupları.....	17
4.1.2. Karaciğer.....	21
4.1.2.1. Kontrol grupları.....	21
4.1.2.2. Deney grupları.....	21
4.1.3. Böbrek.....	25
4.1.3.1. Kontrol grupları.....	25
4.1.3.2. Uygulama grupları.....	25
4.2. Biyokimyasal sonuçlar.....	29
4.2.1. Protein Düzeyi.....	29
4.2.2. Glikojen düzeyi.....	33
5. TARTIŞMA.....	37
6. KAYNAKLAR.....	47
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	57
TABLolar LİSTESİ.....	58
RESİMLER LİSTESİ.....	59
ÖZGEÇMİŞ.....	60

AMAÇ

Kimyasal pestisitler, pestleri kontrol etmeye ekonomik bir yaklaşım olarak tanınmaktadırlar. Böyle kimyasallar aynı zamanda çevredeki diğer türlere oldukça toksiktirler. Balıklar ise hedef alınmayan akuatik organizmalar arasındadır. Pestisitler balıklarda histopatolojik ve biyokimyasal değişiklikler meydana getirirler. Antioksidant maddeler bazı çevresel kirleticilerin toksik etkilerini en aza indirir. Bu yüzden antioksidant maddeler pestisitlerin zararlı etkilerinden balıkları koruyabilir. Önceki çalışmalar, askorbik asidin balıklardaki pestisit toksisitesine karşı antitoksik bir etken olarak kullanılabildiğini saptamıştır.

Literatürlerde, balıklarda pestisitlerin neden olduğu toksisiteler üzerinde antioksidant maddelerin koruyucu ve iyileştirici etkileri hakkında deneysel sonuçların bir eksikliği vardır. Bu çalışma *Tilapia nilotica*'da pestisitlerin etkilerine karşı askorbik asitin koruyuculuğunu ve iyileştiriciliğini incelemek için planlanmıştır.

Alfa cypermethrin çok yaygın bir şekilde kullanılan piretroid insektisitlerden biridir. Deneysel çalışma için altı grup seçildi. Bu gruplar kontrol grubu, aseton kontrol grubu, 0.22 µg/l konsantrasyonlu ve temel diyetli grup, 0.22 µg/l konsantrasyonlu ve askorbik asit ilaveli grup, 0.44 µg/l konsantrasyonlu ve temel diyetli grup, 0.44 µg/l konsantrasyonlu ve askorbik asit ilaveli gruplardır. Bunu pestisitsiz su içerisinde 15 günlük bir iyileşme süreci izledi. İyileşme sürecinde ise tüm gruplar askorbik asit ilaveli diyetle beslendi.

Cypermethrin uygulama ve iyileştirme evresinde askorbik asitin koruyucu ve iyileştirici etkisini ölçmek için uygulamanın 10. ve 20. günü, iyileştirmenin 15. günü histopatolojik ölçümler, uygulamanın 10. ve 20. günü ve iyileştirmenin 7. ve 15. günü biyokimyasal ölçümler yapıldı. Solungaçlarda sekonder lamellerde epitel hipertrofisi, epitel hiperplazisi, epitel ayrılması ve ödem, aneurizm, sekonder lamellerde füzyon gibi lezyonlar gözlemlendi. Sinüsoidlerde kan tıkanması, bulanık şişme, piknotik çekirdek, vakuoler dejenerasyon ve nekroz gibi lezyonlar karaciğerde gözlemlendi. Böbrekte bulanık şişme, vakuol oluşumu, glomerulusta atrofi, hemapoetik dokuda piknotik çekirdek, hiyalin damla dejenerasyonu, Bowman mesafesinde genişleme ve nekroz gibi lezyonlar gözlemlendi. Lezyonların şiddeti artan pestisit konsantrasyonuna ve temel diyete bağlı olarak artış gösterdi. Değişikliklerin çoğu geri dönüşümlüydü. Ancak iyileştirme periyodu sonrasında da histopatolojik lezyonlar mevcuttur.

Biyokimyasal ölçüm olarak protein ve glikojen analizi yapıldı. Protein için kas, karaciğer ve solungaç, glikojen için kas ve karaciğer örnekleri alındı. Uygulama evresinde 0.22 µg/l ve 0.44 µg/l konsantrasyonlu ve temel diyetli gruplarda protein seviyesi azaldı ve 0.22 µg/l konsantrasyonlu ve askorbik asit ilaveli grupta protein seviyesi ile kontrol arasında fark yoktu. İyileştirme periyodunun 7. ve 15. günü tüm gruplarda protein seviyesi arttı. Benzer şekilde uygulama evresinde 0.22 µg/l ve 0.44 µg/l konsantrasyonlu ve temel diyetli gruplarda glikojen seviyesi azaldı ve 0.22 µg/l konsantrasyonlu ve askorbik asit ilaveli grupta glikojen seviyesi ile kontrol arasında fark yoktu. İyileştirme periyodunun 7. ve 15. gününde tüm gruplarda glikojen seviyesi arttı.

Anahtar Kelimeler: Askorbik asit, Alfa cypermethrin, *Tilapia nilotica*, Histopatolojik etkiler, Biyokimyasal parametreler

SUMMARY

v

Alpha cypermethrin is one of the most widely used pyrethroid insecticides. Six groups were chosen for experimental work. These groups were control group, acetone control group, 0.22 µg/l concentration and with basal diet group, 0.22 µg/l concentration and with ascorbic acid supplementation group, 0.44 µg/l concentration and with basal diet group, 0.44 µg/l concentration and with ascorbic acid supplementation group. The fish were allowed recovery period of 15 days in pesticide-free water. All groups were fed with ascorbic acid supplementation diet during recovery period.

During alpha cypermethrin treated and recovery period, histopathologic parameters were studied in treated period of 10 th and 20 th day and 15 th day of recovery period, as well as the biochemical parameters in treated period of 10 th and 20 th, and 7 th and 15 th day of recovery period, in order to measure recovery and protective effects of ascorbic acid. Histopathological lesions such as epithelial hypertrophy, epithelial hyperplasia, oedema, epithelial lifting, aneurism of secondary lamellae and fusion of secondary lamellae were observed in gills. Blood congestion in sinusoids, cloudy swelling, pyknotic nuclei, vacuolar degeneration, necrosis were observed in liver. Lesions such as cloudy swelling, vacuolation, atrophy in glomerulus, pyknotic nuclei in the hematopoietic tissue, hyaline droplet degeneration, expansion of space inside the Bowman's capsule and necrosis were observed in kidney. Severity of lesions increased with increased pesticide concentration, also depending on basal diet. Most of the changes were reversible, but there were histopathological lesions after recovery.

Biochemical measurements for protein and glycogen analysis were carried out. For protein analysis muscle, liver, gill and for glycogen analysis liver, muscle of tissue samples were taken. In treated period, protein levels decreased with 0.22 µg/l and 0.44 µg/l concentration and with basal diet groups, protein levels didn't vary between the control groups and with 0.22 µg/l concentration and with ascorbic acid supplementation group. 7 th and 15 th days of recovery period, protein levels increased in all groups. Similarly, in treated period glycogen levels decreased with 0.22 µg/l and 0.44 µg/l concentration and with basal diet groups, glycogen levels didn't vary between the control groups and group with 0.22 µg/l concentration and with ascorbic acid supplementation. In 7 th and 15 th days of recovery period glycogen levels increased in all groups.

Key words: Ascorbic acid, Alpha cypermethrin, *Tilapia nilotica*, Histopathological effects, Biochemical parameters

Dünya nüfusunun hızla arttığı çağımızda açlık sorununun çözülebilmesi için tarımsal üretimi arttırmada tarım ilaçları büyük oranda kullanılmaktadır. Tarım ilaçlarının asıl amacı, tarımsal üretimi olumsuz yönde etkileyen haşereler, kemiriciler, mantarlar ve yabancı otlar gibi zararlıları yok etmektir. Bu amaçla kullanılan pestisitler hedef alınmayan canlılar için de çok etkilidir ve onlara da büyük zararlar verir. Pestisitlerin kullanımı hedef alınmayan organizmaların doğal populasyonlarında istenmeyen düzensizliklere, tüm ekosistemde dengesizliğe, besin ağının değişimine ya da besin zincirinin kırılmasına yol açabilir (Dökmeci, 1988).

Pestisitler, su içindeki veya kenarındaki bitkilerle ya da böceklerle savaş sırasında ilaçların doğrudan doğruya uygulanması, ilaçlanmış bitki ve toprak yüzeylerinden ilaçların yağmur suları ile yıkanması, ilaç endüstri artıklarının akar ve durgun sulara ya da toprağa boşaltılması halinde bunların topraktaki hareketleri, uygulama aletlerinin, boş ambalaj kaplarının su kaynaklarında yıkanması suretiyle sulara erişir. Ayrıca ilaçla bulaşan atmosferdeki katı ve sıvı ilaç zerreciklerinin su kaynaklarına taşınması sonucunda da sular etkilenirler. Bulaşan suda, planktonlarda ve balıklarda pestisit birikmekte ve buradan da bunları yiyen kuş ve bunun gibi diğer canlılarla insanlara da geçmektedir (Öztürk, 1990).

Pestisitler hedef organizmalara bağlı olarak insektisitler (böceklere karşı), fungusitler (mantarlara karşı), herbisitler (yabancı otlara karşı) ve rodentisitler (kemirgenlere karşı) olmak üzere sınıflara ayrılırlar. İnsentisitler organoklorlu insektisitler, organofosfatlı insektisitler, karbamatlar ve piretroitler olmak üzere dört sınıfa ayrılırmadırlar (URL, 1).

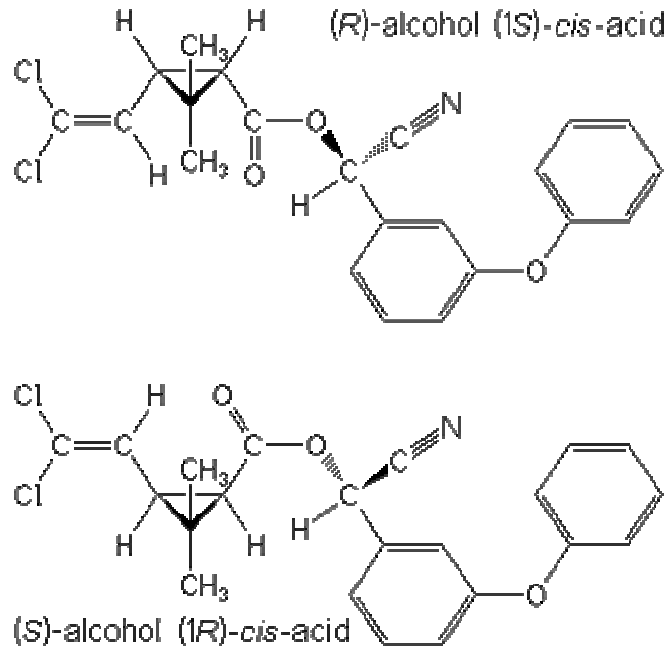
Piretroid pestisitler güçlü insektisit özelliklerinden ve çoğu hedef alınmayan hayvanlara özellikle memelilere non toksik olmalarından dolayı organoklorlu ve organofosfatlı pestisitlere göre daha tercih edilen bir şekilde kullanılmaktadır. Piretroidler kolay bir şekilde metabolize edilmelerinden dolayı çoğu hayvanda oldukça kısa bir ömre sahiptir. Fakat balıklarda durum böyle değildir. Çünkü balıklar piretroidleri hidrolize eden enzim sistemlerinden yoksundurlar (Haya, 1989). Sentetik piretroidler ne tam metabolize olurlar ne de çabucak toksisitelelerini kaybederler. Bu nedenle kalıntı ve birikimleri çok ciddi problemlere yol açar. Sularda pestisitlerin ağır kontaminasyonları oksijen kıtlığı dolayısıyla zehirlenmelere öncülük eder ve balıkların kitlesel ölümlere yol açar (David ve Somasundram, 1985; Venkatramesh ve Agnihotrudu, 1988; Brandbury ve Coats, 1989).

Chrysanthemum cinerariaefolium bitkisinden elde edilen piretroidler, özellikle pamuk

ve diğer bitki zararlılarına ve insanlarda ektoparazitlere karşı yaygın olarak kullanılmaktadır (Dökmeçi, 1988).

Piretroid pestisitlerin başlıca hedefleri, sinir membranlarının sodyum kanallarıdır (Eells ve ark., 1993). Bununla beraber, kalsiyum transport sisteminin değişmesine neden olurlar. Nöromuskular bağlantılarda ya da merkezi sinir sistemindeki nörotransmitter seviyelerinde değişikliklere neden olurlar (Matsumura, 1987). Cypermethrin sinir filamentlerinin Na kanallarını bloke eder. Bu yüzden depolarizasyon fazını uzatır. Bundan başka sinir filamentlerindeki GABA reseptörlerini de etkiler (Bradbury ve Coats, 1989; Hayes, 1994).

Cypermethrin {(RS)- α -cyano-3-phenoxybenzyl (1RS)-cis-trans-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate}} içeren çoğu ürünler cypermethrinin balıklara toksisitesinden dolayı US EPA tarafından 'kullanımı sınırlı pestisitler' olarak sınıflandırılmaktadır. Cypermethrin II sınıf (orta derecede toksik) toksik kimyasal olarak sınıflandırılmaktadır (URL, 2).



Alpha Cypermethrinin yapısı

Alpha-cypermethrin, *-cis* isomer, {[*(R,S)*- α -cyano-3-phenoxybenzyl(*R,S*)-*cis*-2,2-dimethyl-3-(2,2-dichlorovinyl)-cyclopropanecarboxylate]} sentetik piretroid grubundan mide ve temas yoluyla etkili sistemik olmayan bir insektisittir. Alpha-cypermethrin insektisit olan cypermethrinin aktif izomeridir. Emici ve çiğneyici böceklerin büyük bir kısmına oldukça etkilidir. Aynı zamanda sivrisineklere, karasineklere ve hayvan barınaklarındaki diğer zararlı

böceklere karşı aktiftir (URL, 3). Son zamanlarda, balık kültürlerinde ektoparazitlerin kontrolü için kullanılmaktadır (Hart ve ark., 1997; Boxaspen ve Holm, 2001; Das ve Mukherjee, 2003). Bu uygulama, çeşitli hedef dışı akuatik canlılar üzerinde toksik etkilere sebep olmuştur (Burrigde ve ark., 2000; Barata ve ark., 2001).

Alpha-cypermethrin kuşlara ve memelilere toksik değildir. Fakat sucul omurgasızlara ve balıklara yüksek derecede toksiktir (Yılmaz, 2004; Saha and Kaviraj, 2003). Bu durum, alpha-cypermethrinin balıklarda, kuş ve memelilerden daha yavaş bir şekilde elimine ve metabolize olmasındandır. (WHO, 1992; Greulich ve Pflugmacher, 2003).

Bradbury ve Coats (1989) balıklarda cypermethrinin toksikolojisini incelemişlerdir. Alpha-cypermethrinin 96-saatlik LC₅₀ değerini *Cyprinus carpio* için 0.9–1.1 µg/l, *Salmo trutta* için 1.2 µg/l, *Salmo gairdneri* için 0.5 µg/l, *Scardinius erythrophthalmus* için 0.4 µg/l ve *Tilapia nilotica* için 2.2 µg/l olarak bulmuşlardır.

Balıklar toksikolojik patoloji ve akuatik ekosistemlerin sağlığını değerlendirmek için yaygın bir şekilde kullanılan yararlı deneysel modellerdir (Garcia-Santos ve ark., 2006). Bununla beraber alpha-cypermethrinin balık toksisitesi üzerinde yayınlanan deneysel çalışmalar oldukça sınırlıdır.

T. nilotica, kültür koşullarında bakım ve beslenmeye uygun olmaları, üremelerinin kolay olması, kirlenme ve çeşitli hastalıklara karşı dirençli olmaları yüzünden iyi biyolojik model olarak tanınan balıkların en önemli gruplarından birine aittir. Son yıllarda *T. nilotica* akuatik çevredeki kirleticilerin biyolojik etkilerini incelemek için indikatör organizmalar olarak kullanılmaktadır (Almedia, 2002). Cichlidae familyası ve Tilapia cinsine ait olan *Tilapia nilotica*, tropikal bölgelerde 14-33°C sıcaklıkta ve genellikle Nil Nehri'nde yaşayabilen bir balık türüdür. Maksimum boy 60 cm, maksimum ağırlık 4.324 kg olabilir. Kanalizasyon suyu, sulama suyu, göl, nehir gibi tatlı su habitatlarının geniş çeşitliliğinde ortaya çıkar. Çounlukla gündüz hareketlidirler. Besinleri genelde fitoplankton ve bentik alglerdir ve ovipardırlar. Ağız kuluçkası dişi tarafından yapılır (URL 4).

Histolojik inceleme; kirleticilere maruz kalmanın bir indikatörü olarak, özellikle subletal ve kronik etkiler için kirlilik derecesini değerlendirmede yararlı bir yöntemdir (Bernet ve ark., 1999) çünkü pestisitlerin eser seviyeleri, verilen bir periyotta hayvanın ölümüne neden olmaz, fakat bu seviyeler, organlarda önemli zararlar meydana getirme etkisinde olabilirler (Kumar ve Pant, 1984). Kirleticilere maruz kalmadan dolayı en büyük yapısal zararlar hedef organlarda olabilir. Histolojik yapı değişebilir ve fizyolojik stres meydana gelebilir. Bu stres metabolik fonksiyonlarda bazı değişikliklere sebep olabilir.

Fonksiyonlardaki değişiklikler hücresele seviye ve dokulardaki değişikliklerle başlatılır. Çevresel kirleticilerin sebep olduğu patoloji çalışmalarının çoğunda nitel bilgilerin kullanılmasına rağmen nicel bilgiler kirlilik için daha iyidir (Jago, 1996).

Piretroitler lipofilik olmalarından dolayı yüksek bir solungaç absorpsiyonuna sahiptirler. Solungaçlar, balığın dış yüzey alanının en geniş kısmıdır. Birkaç mikrometrelik solungaçlar, sudan kanı ayırmaktadır (Hughes, 1984). Bu birkaç mikrometrelik kısım gaz alışverişini kolaylaştırır; fakat solungaç dokusunu ortamın değişkenleriyle karşı karşıya bırakır. Bundan başka solungaçlar; respirasyon, osmoregölasyon ve azotlu atık ürünlerin ekskresyonunu ve asit baz dengesini içeren birçok fonksiyonu yapar (Wood, 1991). Solungaçların dış çevre ile sürekli teması solungaçları sudaki kirleticilere karşı ilk hedef yapar (Perry ve Laurent, 1993). Bu nedenle, kirleticilerin sebep olduğu solungaçlardaki fonksiyonel bozukluklar, balığın sağlığına önemli bir şekilde zarar verebilir. Buna ilaveten balık solungaçları, su kirlilik seviyelerinin en uygun indikatörleri olarak düşünölmektedir (Kırk ve Lewis, 1993).

Çevresel kirleticilere karşı kanıtlanmış hassasiyeti ve metabolizmadaki merkezi rollerinden dolayı karaciğer, hem memeliler hem de balıklarda, organik ve inorganik kimyasalların letal ve subletal etkileriyle ilgili toksikolojik incelemelerde büyük bir ilgi toplamıştır (Wester ve Canton, 1986). Çünkü balık karaciğeri, pestisitlerin biotransformasyon, ekskresyon ve depo işlemlerinde kullanılmaktadır. Detoksifikasyon mekanizmalarındaki rollerinden dolayı önemli bir metabolik yer olan karaciğer, pestisit etkisi altında kalan balıkların hayatta kalması için çok önemlidir (Arnold ve ark., 1995).

Daha yüksek omurgalılarda olduğu gibi balıklarda da böbrek iç çevrenin kararlılığında, elektrolit ve su dengesiyle ilgili önemli fonksiyonlar gerçekleştirirler. Böbrek metabolizmadan amonyak, kreatinin ve üre gibi nitrojen içeren atık ürünleri uzaklaştırır. Pestisitler gibi toksik maddelere balıkların maruz kalmasını izleyen doku değişiklikleri glomerulus ve tüböl epiteli seviyelerinde bulunmuştur (Teh ve ark., 1997). Su kirliliği balıklarda patolojik değişiklikler meydana getirir. Kontaminantlara maruz kalmanın bir indikatörü olarak histopatoloji, ekolojik kirliliğin derecesini değerlendirmek için yararlı bir araçtır. Balıklar çevresel kirliliğin izlenmesinde uygun bir indikatördür. Çünkü hem beslenme yoluyla hem de direkt olarak sudan kirleticileri alarak dokularında yoğunlaştırırlar. Böylece besin zinciri yoluyla kirliliğin taşınmasına imkan sağlarlar (Fisk ve ark., 2001; Boon ve ark., 2002).

Piretroid pestisitler balıklarda enzim seviyelerinde, biyokimyasal, histopatolojik ve hematolojik parametrelerde değişikliklere sebep olmuştur. Histopatoloji, çevresel kirleticilerin mekanizmalarında ve hedef dokuların araştırılmasında indikatör bir malzeme olarak yararlı olduğu için seçilmiştir (Hinton and Lauren, 1990). Sublethal konsantrasyonlarda deltamethrin uygulanmış *Gambusia affinis*'in solungaç dokularında epitel ayrılması ve ödem, sekonder lamellerde füzyon, primer lamellerde hemoraji, nekroz ve deskuamasyon, karaciğer dokularında bulanık şişme, yağ dejenerasyonu ve nekroz gibi lezyonlar gözlenmiştir (Cengiz ve Unlu, 2006). Cypermethrin uygulananan gökkuşacağı alabalığının bazı dokularında (deri, dalak, kranial ve kaudal böbrek) histopatolojik değişiklikler gözlenmezken solungaçların sekonder lamellerinde aneurizm ve karaciğerde hepatositlerde dejenerasyon gözlenmiştir (Velisek ve ark., 2006).

Açıklanan bu histolojik değişikliklere ilaveten, pestisitler organizmaların biyokimyasında da önemli değişiklikler yapabilmektedir. *Tilapia mossambica*'nın karaciğer, solungaç ve beyin dokularında lipit metabolizması üzerinde cypermethrinin sublethal konsantrasyonlarının etkileri incelenmiş ve cypermethrin stresi sırasında aynı anda yapılan lipoliz ve lipojenez çalışmasında gliserol içerikte bir azalma ve serbest yağ asiti, lipaz ve total lipitte bir artış gözlenmiştir. Fosfolipit seviyeleri düşmüş, kolesterol tüm dokularda yükselmiştir. (Reddy ve ark., 1991). Cypermethrinin subletal maruz bırakılması *Labeo rohita*'nın dokularındaki enzim seviyelerinde, biyokimyasal ve hematolojik parametrelerde değişikliğe sebep olmuştur (Das ve Mukherjee, 2003). *Cyprinus carpio* cypermethrinin sublethal konsantrasyonuna, protein metabolizmasının çeşitli parametrelerini analiz etmek için maruz bırakılmıştır. Serbest amino asit proteaz aktivitesi, aspartat aminotransferaz ve alanin aminotransferaz cypermethrin stresinde önemli ölçüde yükselirken, total, yapısal ve çözülmüş proteinler azalma göstermiştir. Böylece cypermethrin stresindeki balığın protein metabolizmasındaki çeşitlilik, protein sentetik metabolizmasının bozulmasına sebep olması nedeniyle hücre metabolizmasında toksik etkiler göstermiştir (David ve ark., 2004).

Glikojen glikozun bir depo şekli olarak özellikle kas ve karaciğerde bulunur. Kas dokusu glikojeni sadece kendi enerjisi için kullanır. Buna karşın karaciğer glikojeni plazma glikozunun öncelikli bir kaynağıdır. Gereksinim durumunda her iki dokuda depolanan glikojen glikojenolizise uğrar ve bunun sonucunda depo glikojen düzeyi azalır (Gluth ve Hanke, 1985). Glikojenolizis kas ve karaciğer dokularında farklı kirleticilerin oluşturduğu stres sonucu artabilir (Narendra ve Srivastava, 1981; Gupta ve Srivastava, 1982). Glikojen içeriğinde gözlenen azalma kirletici stresıyla meydana gelen hypoxia altında ekstra enerji

isteğini karşılamak için anaerobik glikolizis vasıtasıyla depo edilen glikojenden yararlandığını gösterir (Heath, 1987). Kadmiyumun subletal konsantrasyonlarına maruz bırakılan *T. nilotica*'nın karaciğer ve kasındaki glikojen içeriğinin anlamlı azalması hypoxia altında yada kimyasal stres altında gerekli enerjiyi karşılamak için anaerobik glikolizis vasıtasıyla depo edilen glikojenden yararlandığını gösterir (Dhavale ve Masurekar, 1986).

Askorbik asit balıkları da içeren hayvanlarda normal fizyolojik fonksiyonlar için gerekli bir vitamindir (Wilson, 1973). Teleostlerin çoğu askorbik asiti bu vitaminin sentezi için gerekli son enzim olan L-gulonolactone oksidaz (GulL-ox) 'ın eksikliği nedeniyle sentezleyemezler. (Wilson, 1973). Askorbik asitin doğal kaynakları balığın normal büyümesinde yetersizdir (Roy ve Guha, 1958). Bu yüzden balık diyetlerinde vitamin C nin yetersiz sağlanması genellikle spinal deformasyon, kollojen oluşumunun zayıflaması, iç hemoraji ve büyümenin yavaşlaması gibi belirtiler gösterir (Halver ve ark., 1969). *Oncorhynchus mykiss* ve *Ictalurus punctatus* gibi bazı balık türlerinde vitamin C diyeti muhtemelen fagositik hücreler üzerindeki antioksidant özelliğinden dolayı immün yanıtı etkilediği saptanmıştır (NCR, 1993).

C vitamini fagositik aktivite, solunumun hızlanması, strese karşı direncin artması (Durve ve Lovell, 1982) ve onarıcı etkiler gibi immünolojik parametreler üzerinde etkilidir. Bağ dokuda prokollojenin kollojene dönüşümü için gereklidir. Bazı nöroendokrin peptidleri, nöroepinefrin ve karnitin biyosentezine katılır ve azalan gerekli enzimleri korumak için yardım eder. Askorbik asit eksikliği immün sistemin zayıflaması, yaraların geç iyileşmesi, kılcal damarların hassalaşması, iskelet bozuklukları, büyüme oranında azalma ve bakteriyel hastalıklara karşı daha hassas olan türler ortaya çıkmasına neden olur (Lim ve Lovell, 1978).

Askorbik asit membranlar ve biyolojik sıvılarda ROS (Reaktif Oksijen Türü) üzerindeki antioksidant kapasitesi nedeniyle de bilinmektedir (Lee ve Dabrowski, 2003). Düşük oksijen, yüksek tuzluluk gibi çevresel stresörlere maruz kalan bazı balık türlerinde yüksek seviyeli askorbik asitin stres toleransını arttırdığı saptanmıştır (Ishibashi ve ark.,1992; Merchine ve ark., 1996; Gapasin ve ark.,1998). Askorbik asit suda çözünen bir antioksidanttır. Bununla birlikte kararsız vitaminlerden biridir. Hava, sıcaklık, oksidaz enzimleri ve multivalent katyonlar ile kolayca okside olurlar (Hilton ve ark.,1977).

Birçok çalışmada askorbik asit ilave edilen diyetlerin yalnızca balığın büyümesine yardım etmediği aynı zamanda balığı birçok pestisit toksisitesinden koruduğu saptanmıştır (Kutsky, 1973, Blanco ve Meade, 1980). Bazı çalışmalarda askorbik asit, pestisit toksisitesine karşı antitoksik etmen olarak kullanılmıştır. Ancak balıkta direnç üretmek için

askorbik asit ilaveli diyet toksikantın tipine ve balık türlerine bağlıdır.

Bu çalışmada Cichlidae familyasından olan tatlı su balığı *Tilapia nilotica*'ya piretroit insektisit alpha-cypermethrinin sublethal konsantrasyonlarının kas, karaciğer, solungaç dokularındaki protein düzeyi ile kas ve karaciğer dokularındaki glikojen düzeyi üzerine kantitatif etkileri ve karaciğer, solungaç ve böbrek dokularındaki histopatolojik etkileri üzerinde askorbik asitin iyileştirici ve koruyucu etkilerinin saptanması amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

SAHIB ve ark. (1984), *Tilapia mossambica*'nın dokularında protein düzeyine malathionun etkilerini araştırdılar. Protein düzeyi konrole göre düşük bulundu.

FERRANDO ve GLUTH ve HANKE (1985), *Cyprinus carpio*'da çeşitli kirleticilerin neden olduğu fizyolojik değişiklikleri araştırdılar. Gereksinim durumunda kas ve karaciğerde depolanan glikojenin azaldığını saptadılar.

GILL ve ark. (1988), balığın Metoksi Etil Civa Klorite maruz bırakılması sonucunda böbrek ve solungaç patolojisi incelediler. Solungaçlarda aneurizm, epitel nekrozu, klorid hücrelerinin hipertrofisi, füzyon ve mukus hücrelerinin azalması ve böbrekte nekroz, piknotik çekirdek, glomerulus atrofisi, ve ödemli olan lezyonlar gözlemlendi.

RICHMONDS ve DUTTA (1989), *Lepomis macrochirus*' ta Malathionun neden olduğu solungaç lezyonlarını araştırdılar. 24, 48, 72, 96 saatlik uygulamada epitel ayrılması ve nekroz, ödem, sekonder lamellerde füzyon ve sekonder lamelde atrofi gözlemlendi.

GILL ve ark. (1990-a), tatlı su balığında (*Puntius conchoni*) üç pestisitinin hepatotoksitesini araştırdılar. Aldikarb, fosfamidon ve endosulfanın sebep olduğu hepatik lezyonlar; hipertrofi, vakouol oluşumu, nuklear piknoz, karyolizis ve hepatositlerin yağ dejenerasyonu şeklinde not edildi.

GILL ve ark.(1990-b), Endosulfan uygulanmış tatlısu balığı *Barbus conchoni*'ta organ ve kan kimyası üzerinde endosulfanın etkilerini araştırdılar. Kanda total lipit, kolesterol ve proteinler kontrole göre azalırken serbest yağ asidi, glikoz, total fosfat ve laktat yükseldiği kaydedildi.

ANDREU-MOLINER (1991), Lindan uygulanan tatlı su yılan balığının beyinde bazı biyokimyasal parametrelerin değişimini araştırmışlardır. Beyinde 6, 12, 24, 72 saat uygulamada glikojen seviyesi azaldı.

KARAN ve ark. (1998), bakır sülfat etkisinden sonra *Cyprinus carpio*'nun solungaç histopatolojisi ve fonksiyonel enzim aktivitelerini ve iyileştirme sürecinden sonraki durumlarını araştırdılar. Solungaç lezyonlarından geri dönüşümlü olanlar iyileşme sürecinden sonra iyileşme gösterdi. Uygulama evresinde yükselen enzim aktivitesi iyileşme sürecinde azaldı.

GUHA ve KHUDA (2001), *Oreochromis mossambicus*'ta etil metan sülfonatın (EMS) neden olduğu genotoksik etkide vitamin C' nin etkilerini araştırdılar. EMS uygulaması kromozomlarda sapma, kırmızı kan hücrelerinin çekirdeklerinde ayrılma, anormal spermatozoon, çeşitli dokularda protein sentezinde hareketlilik saptanmıştır. Buda, balıkta

EMS nin bazı toksik etkileri vitamin C uygulaması ile iyileştirilebilir ve hafifletilebilir olduğunu ortaya koydu.

BHAVAN ve GERALDINE (2001), Endosulfana maruz kalan *Macrobrachium malcolmsonii* dokularında biyokimyasal stres yanıtlarını incelemişlerdir. Protein düzeyi kontrole göre azalma göstermiştir.

ARRIGONI ve DE TULLIO (2002), askorbik asitin antioksidant ve diğer özelliklerini araştırdılar.

DATTA ve KAVIRAJ (2003), tatlısu kedi balığı *Clarias gariepinus*'ta strese neden olan deltamethrinin etkisini azaltmak için askorbik asitli diyet uyguladılar. Sonuç olarak düşük seviyedeki askorbik asit ilaveli diyetin stresi iyileştirmediği ve yeterli miktarda askorbik asit ilaveli diyetin deltamethrin toksisitesi üzerinde iyi bir işlevi olduğu ortaya çıktı.

ÇALIŞKAN ve ark. (2003), *Lebistes reticulatus*'un solungaçları üzerinde zeta cypermethrinin etkilerini araştırdılar. 15, 20, 26, 35 µg/l sublethal konsantrasyonların uygulanması sonucunda sekonder lamelin kısalması, hiperplazi, nekroz ve epitel tabakanın ayrılması gözlemlendi.

SARKAR ve ark. (2004), *Labeo rohita*'da karbofuran ve cypermethrinin neden olduğu histopatolojik değişiklikleri ve uygulama sonrasında iyileştirmeyi incelediler. İyileşme sürecinde normale geri dönmek için uzun bir süreç gerekli olduğu için tamamen iyileşme gözlemediler.

BEGUM (2005), cypermethrinin sublethal konsantrasyonlarının *Clarias batrachus*'un karaciğer ve solungaç dokularındaki total protein, amino asit, glikojen, aminotransferaz (ALAT, AAT), glutamat dehidrojenaz ve glikojen fosforilaz gibi enzimlere olan etkilerini çalıştı. Protein içeriği uygulama sonunda azalma gösterdi. Fakat iyileştirme sırasında her iki dokuda da arttı. Uygulama esnasında 1. ve 5. gün azalan glikojen miktarı 10. gün artış gösterdi ve iyileştirme sürecinde artış not edildi.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Balık örneklerinin temini



Tilapia nilotica Africa kökenli bir balık türü olup, kültür koşullarında bakım ve üremesinin kolay olması, besin maddelerini iyi değerlendirmesi, kirlenmeye ve çeşitli hastalıklara karşı dirençli olması bu türün kültür balıkçılığındaki önemini her geçen gün arttırmaktadır (Saruhan ve Toral, 1980). Deney materyali olarak kullanılan *T. nilotica* örnekleri, Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi yetiştirme havuzlarından sağlandı. *T. nilotica* Africa kökenli bir balık türü olup, kültür koşullarında bakım ve üremesinin kolay olması, besin maddelerini iyi değerlendirmesi, kirlenmeye ve çeşitli hastalıklara karşı dirençli olması bu türün kültür balıkçılığındaki önemini her geçen gün arttırmaktadır (Saruhan ve Toral, 1980). Balıklar anestezi madde (phenoxiethanol 200 mg/l) kullanılarak laboratuara getirildi. Yakalanan balıkların mümkün olduğunca birbirine yakın boy ve ağırlık değerine sahip olmasına özen gösterildi. Bu şekilde balık dokularında, yaşa ve ağırlığa bağlı olabilecek varyasyonların olabildiğince azaltılması amaçlandı. Balıkların ortalama vücut ağırlığı 16.40 ± 4.20 gr ve total uzunluğu 10.98 ± 1.46 cm olarak ölçüldü.

3.2. Deney düzeneklerinin hazırlanması

Dicle Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Hidrobiyoloji Araştırma laboratuvarına getirilen *T. nilotica* örnekleri, içerisinde dinlendirilmiş musluk suyu bulunan ve merkezi havalandırma sistemi ile devamlı havalandırılan $40 \times 35 \times 40$ cm boyutlarında 6 adet

akvaryuma bırakılarak, bir hafta boyunca laboratuvar şartlarına alışmaları sağlandı. Aydınlatma dört adet flouresan lamba (Daylight 36W/54) ile sağlandı. Aydınlatma 8 saat aydınlık, 16 saat karanlık olacak şekilde düzenlendi. Adaptasyon ve test aşamalarında laboratuvar termostatlı klima ile 23 ± 1 °C sabit sıcaklıkta tutuldu. Adaptasyon süresi boyunca balıklar her defasında vücut ağırlığının %1'i olacak şekilde günde 1 kez ticari olarak satılan pellet diyetlerle beslendi. Çalışma sırasında akvaryumdaki suyun kimyasal özellikleri Tablo 1'de verildi.

Tablo 1. Laboratuvar şartlarında kurulan akvaryumdaki suyun kimyasal özellikleri:

Kimyasal Parametreler	
PH	7.94±0.505
Çözünmüş oksijen	7.5±0.38mg/l
Total klor	42.6 mg/l
Toplam sertlik	287±2.35 mg/l CaCO ₃
Mg	36 mg/l
Elektriksel iletkenlik	7.94 Mmho/cm
NO ₃ -N	2.1 mg/l
NO ₂ -N	0.002 mg/l

3.3. Kimyasalların hazırlanması

Teknik alpha-cypermethrin stok solüsyon hazırlanıncaya kadar +4 °C'de muhafaza edildi. Stok alpha-cypermethrin solüsyonu, teknik saf alpha cypermethrinin aseton içerisinde çözündürülmesi ile elde edildi. Stok pestisit solüsyonundan aseton ile bir dizi sulandırmalar yapılarak istenilen konsantrasyonlara ulaşıldı. Her test solüsyonu, stok pestisit solüsyonundan taze olarak hazırlandı. Deneyde cypermethrinin 0.22 µg/l ve 0.44 µg/l subletal derişimleri kullanıldı. Test edilen cypermethrin konsantrasyonları 96 saatlik LC₅₀ değerinin %10 ve %20'si idi. *T. nilotica* için cypermethrinin 96 saatlik LC₅₀ değeri Bradbury ve Coats (1989) tarafından 2.2 µg/l olarak bulunmuştur. Pestisitinin yarılanma ömrü ve buharlaşma gibi nedenlerle, test solüsyonlarının derişimlerinde zaman içerisinde derişimler olabileceği göz önüne alınarak, test solüsyonlarının yaklaşık % 50'si her gün boşaltılarak yerine yeni hazırlanmış solüsyonlar ilave edilmiştir. Teknik saf alpha-cypermethrin (%98) Hemakim Tıbbi Ürünler Ticaret ve limited şirketinden ve aseton SIGMA-ALDRICH®, firmasından elde edilmiştir. Balıklar aşağıdaki gibi 6 deney grubuna ayrıldı. Ve ayrı akvaryumlara yerleştirildi. Her bir grup için 25 balık kullanıldı.

Grup-I. Pestisit içermeyen ve kontrol diet ile beslenen balıkları içeren grup (n=25)

Grup-II. Pestisit içermeyen, alpha-cypermethrin konsantrasyonlarının sulandırılması için kullanılan asetonun maksimum seviyesi ilave edilen ve kontrol diet ile beslenen balıkları içeren grup (n=25)

Grup-III. Alfa-cypermethrinin %10'luk konsantrasyonuna maruz bırakılan ve kontrol diet ile beslenen balıkları içeren grup (n=25)

Grup-IV. Alfa-cypermethrinin %10'luk konsantrasyonuna maruz bırakılan ve C vitamin destekli diet ile beslenen balıkları içeren grup (n=25)

Grup-V. Alfa-cypermethrinin %20'luk konsantrasyonuna maruz bırakılan ve kontrol diet ile beslenen balıkları içeren grup (n=25)

Grup-VI. Alfa-cypermethrinin %20'luk konsantrasyonuna maruz bırakılan ve C vitamin destekli diet ile beslenen balıkları içeren grup (n=25)

Grup I ve Grup II kontrol gruplarıdır. Grup III, IV, V ve VI ise deneysel gruplardır. 20. gün sonunda III., IV., V. ve VI. grup balıklara cypermethrin uygulaması durduruldu. Grup III, IV, V ve VI ya ait balıklar 15 gün boyunca C vitamin destekli diet ile beslendi.

Deney sırasında gruplarda ölen balıklar Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Deney sırasında ölen balıklar

Gruplar	Ölen balık sayısı	% Ölüm
I n=25	-	0
III n=25	-	0
III n=25	2	8
IV n=25	1	4
V n=25	-	0
VI n=25	-	0

3.4. Diyet hazırlama

Deneysel diyetler ticari pellet diyetinden laboratuarda hazırlandı. Kontrol diet, ticari pelletin 100 gramına 0.25 ml balık yağının spreyleneşmesi ile elde edildi. C vitamini eklenmiş diyet ise 100 gr ticari pellete 300 mg L(+)-Ascorbic acid sodyum tuzu ilave edilmesi ile hazırlandı ve sonra pelletin 100 gramına 0.25 ml balık yağının spreyleneşmesi ile C vitamininin

pelete yerleşmesi sağlandı (Cuesta ve ark. 2002). Vitaminler ısı ve neme oldukça hassas oldukları ve etkilerini uzun depolama esnasında kaybedebilecekleri için tüm deneysel dietler günlük olarak hazırlandı. Deney süresi boyunca balıklar her defasında birey ağırlığının %1'i olacak şekilde günde 1 kez deneysel diet ile beslendiler.

Yem hazırlamada kullanılan ticari yemin (Golden Fish Food) içeriği aşağıda tabloda verilmiştir (Tablo 3). Deneyde kullanılan L(+)-Ascorbic acid sodyum tuzu FLUKA® (A4403), balık yağı SIGMA-ALDRICH® firmasından elde edildi.

Tablo 3. Kullanılan balık yeminin içeriği

Protein	35%
Yağ	3%
Lif	5%
Su	10%
Diğerleri(multivitamin, gerekli mineraller vs.)	47%

3.5. Histolojik preparatların hazırlanması

Histopatolojik değişiklikleri belirlemek amacıyla, hem kontrol grubu hem de deney gruplarının her birinden 10., 20. ve iyileştirme periyodunun 15. gününde en az 3 balık çıkarılarak 50 mg/l MS-222 içeren çözeltiye alınarak 2-3 dakika içinde sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen balıkların solungaç, karaciğer ve böbrekleri alınarak %10'luk formalin fiksatif ile tespit edildi. Tespitten sonra parçalar, 1 gece boyunca akarsu altına bırakılarak fiksatifin dokudan uzaklaşması sağlandı. Dokular artan etil alkol serilerinden (%30, %50, %70, %80, %90, %96, %100) geçirilerek dehidre edildi. Ksilende saydamlaştırılan dokular, parafin banyolarından sonra 58-60 °C'de erimiş parafin bloklara alındı. Parafin bloklardan LEICA rotary mikrotom ile 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Ksilin ile parafinden kurtarılan kesitler, Hematoksilen-Eozin ile boyandı (Gurr, 1972). Hazırlanan preparatlar, Nikon YS100 marka ışık mikroskobu ile incelendi. Coolpix 8400 marka fotoğraf makinesi ile fotoğraflandı.

Deneyde kullanılan MS-222 (E10521), parafin, ksilen ve hematoksilen (MHS-16) SIGMA-ALDRICH®, formaldehit ve Eosin Y (E4009) FLUKA®, etil alkol Aklar Kimya firmalarından elde edilmiştir.

3.6. Biyokimyasal çalışma

Deneyin 10. ,20. ve iyileştirme sürecinin 7. ve 15. günlerinde alınan iskelet kası, karaciğer ve solungaç doku örnekleri -28 °C de çalışmaya başlanıncaya kadar muhafaza edildi. *T. nilotica* örneklerinden glikojen özütlenmesi için, Roe ve ark. (1961) tarafından geliştirilen yöntem, elde edilen glikojenin miktar tayini için “Antron Testi” kullanıldı. Protein özütlenmesinde ise Plummer (1971) tarafından açıklanan yöntem ve teknikler izlendi. Protein miktar tayininde ise “Kantitatif Biüret Testi” yöntemleri uygulandı.

3.6.1. Protein özütlenmesi

Kas, karaciğer ve solungaç doku örneklerinin yaş ağırlıkları saptandıktan sonra %10'luk 10 ml trikloresetikasit eklendi. Ultra-turrax; T-25 homojenizatör ile 24.000 dev/dak da 5 dakika homojenleştirildi. Homojenleştirme işlemi sıcaklığın 15°C nin üstüne çıkmaması için buz kalıpları içindeki tüpte yapıldı. Elde edilen homojenat daha sonra 3500 dev/dak. da 10 ml triklorasetikasit eklenerek 5 dakika santrifüjlendi (Hettich; EBA20). Daha sonra süpernatant kısım tüplerden pipet yardımıyla uzaklaştırıldı. Presipitant üzerine 5 ml %95 'lik etil alkol ilave edilerek 3500 dev/dak. da 15 dakika santrifüjlendi. Süpernatant kısım uzaklaştırılıp protein özütleri içindeki lipidlerin uzaklaşması için 5ml % 95'lik etil alkol eklenip 3500 dev/dak. da 15 dakika santrifüjlenme işlemi tekrar yapıldı. Bu işlem sonucunda elde edilen çökelti 37°C etüvde alkolü buharlaşıp iyice kuruyuncaya kadar bekletildi. Ezilerek toz haline getirilen karaciğer örneği toplam 5 ml, kas ve solungaç örnekleri 50 ml olacak şekilde saf su ilave edildi (Plummer, 1971).

3.6.2. Protein miktar tayini:

Örneklerin protein miktar tayini için iyice çalkalanan çözeltilerden 2 ml alınarak üzerine 3 ml kantitatif biüret ayırıcı eklendi. Örnekler 37°C etüvde 10 dakika bekletildikten sonra çözelti içindeki partiküllerin çöktürülmesi için 3500 dev/dak. da 5 dakika santrifüjlendikten sonra spektrofotometre tüplerine aktarıldı. Örneklerin absorbans değerleri 540 nm dalga boyunda spektrofotometre (SHIMADZU UV-VIS SPECTROPHOTOMETER mini 1240) yardımıyla ölçüldü. Örneklerdeki protein miktarının belirlenmesi amacıyla protein standartları hazırlandı. Bunun için 1 gr yumurta albumini 100 ml oluncaya kadar saf suda çözülerek 10mg/ml stok çözelti elde edildi. Bu çözeltilerden seyreltilerek 1, 2, 4, 6, 8, 10 mg/ml seyreltik çözeltiler ve kör hazırlandı (Tablo 4). Hazırlanan 2 ml değişik konsantrasyonlardaki protein çözeltilerinin her birine 3 ml biüret ayırıcı eklenip 37°C etüvde 10 dakika bekletildikten sonra soğutulup absorbansı 540 nm dalga boyunda ölçüldü.

Tablo 4. Protein standardı hazırlanması

	Stok protein çözeltisinden alınan miktar (ml)	Saf su (ml)	Biuret ayırıcı(ml)
1	0.2	1.8	3
2	0.4	1.6	3
3	0.8	1.2	3
4	1.2	0.8	3
5	1.6	0.4	3
6	2	-	3
Kör	-	2	3

3.6.3. Glikojen özütlenmesi:

Kas ve karaciğer doku örneklerinin yaş ağırlıkları saptandı. 10 ml %10'luk triklorasetikasit ilave edildi. Ultra-turrax; T-25 homojenizatör ile 24.000 dev/dak. 5 dakika homojenleştirildi. Elde edilen homojenat daha sonra 3500 dev/dak. da 10 ml triklorasetikasit eklenerek 15 dakika santrifüjlendi. Daha sonra süpernatant kısım tüplerden pipet yardımıyla başka bir tüpe aktarılarak üzerine çözeltinin hacminin iki katı kadar %95'lik etil alkol ilave edildi. Tüpler sıcak su banyosunda 37°C etüvde bir gece bekletildikten sonra 15 dakika santrifüjlendi. Süpernatant kısım atıldı ve elde edilen özütler 37°C etüvde alkolü buharlaşmaya kadar bekletildi. Daha sonra kas, karaciğer dokusuna ait glikojen özütleri saf su ile 5 ml' ye tamamlandı analize hazır hale getirildi (Roe ve ark 1961).

3.6.4. Glikojen miktar tayini:

Glikojen içerikli çözeltiden 1 ml alınarak üzerine 4 ml antron ayırıcı eklenen örnekler 10 dakika 37°C de sıcak su banyosunda bekletildi. 3500 dev/dak. da 5 dakika santrifüjlendi. Daha sonra spektrofotometre tüplerine aktarılan örneklerin absorbanı 620 nm dalga boyunda ölçüldü. Örneklerdeki glikojen miktarının belirlenmesi amacıyla glikojen standartları hazırlandı. Bunun için 1 gr saf glikojen 100 ml oluncaya kadar saf suda çözülerek 10 mg/ml stok çözelti elde edildi. Bu çözeltiden seyreltilerek 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mg/ml seyreltik çözeltiler ve kör hazırlanmıştır (Tablo 5).

Hazırlanan 1 ml değişik konsantrasyonlardaki glikojen çözeltilerinin her birine 4ml antron ayırıcı eklenip 37°C sıcak su banyosunda 10 dakika bekletildikten sonra 3500 dev/dak da 5 dakika santrifüjlenmiştir. Daha sonra spektrofotometre tüplerine aktarılan örneklerin absorbanları 620 nm de okunmuştur. Deneyde kullanılan triklorasetikasit (490-10) FLUKA®, Antron ayırıcı MERCK® (A1631), glikojen standardı (G0885) ve yumurta albumini (A5253) SIGMA-ALDRICH® den elde edilmiştir.

Tablo 5. Glikojen standardı hazırlanması

	Stok glikojen çözeltisinden alınan miktar (ml)	Saf su (ml)	Antron ayıracı(ml)
1	0.01	0.99	4
2	0.02	0.98	4
3	0.04	0.96	4
4	0.06	0.94	4
5	0.08	0.92	4
Kör	-	1	4

Antron ayıracını hazırlamak için; 20 mg antron 5 ml konsantre H₂SO₄ içerisinde çözüldü ve 10 ml %60'lık H₂SO₄ eklendi.

Biüret ayıracını hazırlamak için 6 gr Na-K tartarat (NaKC₄H₄O₆H₂O), 1.5 gr bakır sülfat ile karıştırıldı. 500 ml saf su eklendi ve çözüldü. %10'luk 300 ml NaOH çözeltisi birinci çözeltiliye yavaş yavaş eklendi ve 1 litreye tamamlandı ve karıştırıldı.

Deney verilerinin istatistik değerlendirmesi "Regresyon Analizi" ve "Student Newman Keul's Test (SNK)" uygulanarak yapıldı (Rohlf ve Sokal, 1969; Sokal ve Rohlf, 1969).

4. BULGULAR

4.1 Histopatolojik bulgular

4.1.1. Solungaç

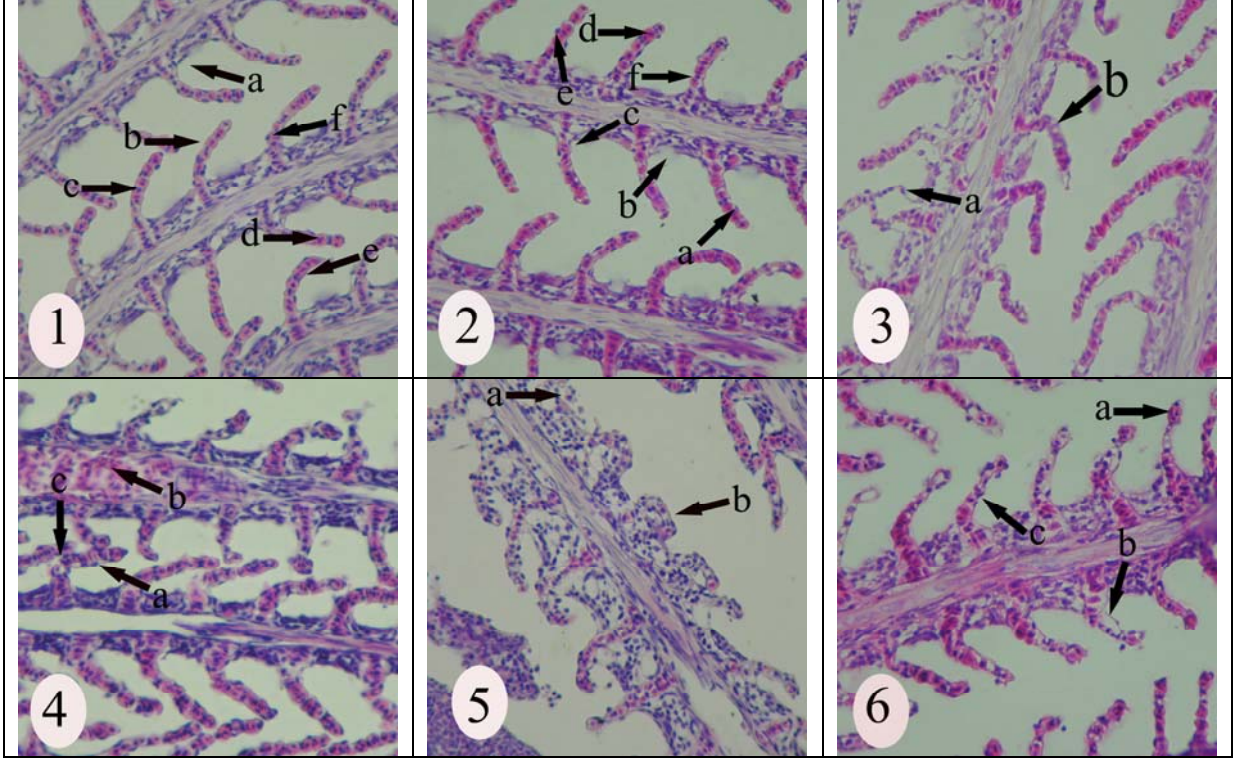
4.1.1.1. Kontrol grupları: Bukkal boşluğun her iki yanında 4 solungaç yayı vardır. Her yay filamentlerden oluşmuştur. Her filamentin alt ve üst her iki yüzünde filament eksenine dikey olarak oluşmuş ve filamentin enine ikincil katları olan çok sayıda solungaç lameli bulunur. Lameller ince bir tabaka epitelle örtülüdür. Her lamel ince bir bazal membranla sarılı olan ve pillar hücreleri denilen destekleyici hücrelerce sinüsoid diye adlandırılan çok sayıda kanallara ayrılmıştır. Her kapiller (sinüsoid) lümende bir yada iki eritrosit bulunabilir ve sekonder solungaç lamelinin bazı kısımlarında, mukus hücreleri ve lamelin temelinde asidofilik özellikteki klorid hücreleri bulunur.

Deneyde kontrol balıklarının solungaçları normal görünümündedir ancak sekonder lamelleri çeviren epitel hücrelerinde çok hafif bir hipertrofiye rastlanmıştır (Resim 1, 2).

4.1.1.2. Deney grupları: 10. 20. ve 35. günlerde farklı gruplardan histopatolojik uygulamaların semikantitatif sonuçları Tablo 6'da sunulmuştur. Uygulama evresinde bazı solungaç lezyonları ve bunların iyileşme süreci sonundaki durumları Resim 3-14 de gösterilmiştir. Lamel epitelinin ayrılması ve ödem çalışılan iki konsantrasyonda da kaydedilmiştir. (Resim 3, 6, 8, 12, 14). 10. günde hiperplazi, deskuamasyon, nekroz, sekonder lamellerde kaynaşma ve pillar hücre sisteminin kırılması lezyonlarının IV. grupta oluşmadığı gözlenmiştir (Resim 4).

Farklı cypermethrin konsantrasyonlarına maruz kalmış *Tilapia nilotica*'nın solungaç dokularında çok sık görülen lezyonlardan biri sekonder lamel epitelinin hiperpazisidir. Bu lezyonlar ilk konsantrasyon (0.22 µg/l) ile görülmeye başlanmıştır. Toksikant konsantrasyonun yükselmesi ile (0.44 µg/l) artan hiperplazi sonucunda birçok sekonder lamelin tamamen kaynaşması saptanmıştır. Lameller arası alan epitel hücreleri ile dolmuştur (Resim 9). İyileşme periyodunda bu hücrelerde azalma gözlenmiştir (Resim 13). Morfolojik değişikliklerin dönüşümlü olanların çoğunda iyileşme sürecinden sonra fark edilebilir bir iyileşme saptanmıştır. Lamel epitelinin ayrılması, sekonder lamellerin kaynaşması gibi lezyonlarda fark edilebilir bir iyileşme söz konusudur (Resim 4, 6). Ancak bazı dönüşümsüz yada geri dönüşümü zor olan nekroz ve deskuamasyon gibi lezyonlarda bir iyileşme gözlenmemiştir (Resim 14). Pillar hücre sisteminin kırılması 10. ve 20. günlerde şiddetli bir

şekilde görülmüştür (Resim 3, 4 ve 7) ve iyileştirme sürecinde tüm gruplarda fark edilebilir derecede azalma saptanmıştır.



Resim 1 I. grup (kontrol) 20. gün, a; primer lamel, b; sekonder lamel, c; pillar hücresi, d; eritrosit, e; epitel hücresi, f; mukus hücresi, H&E x 400

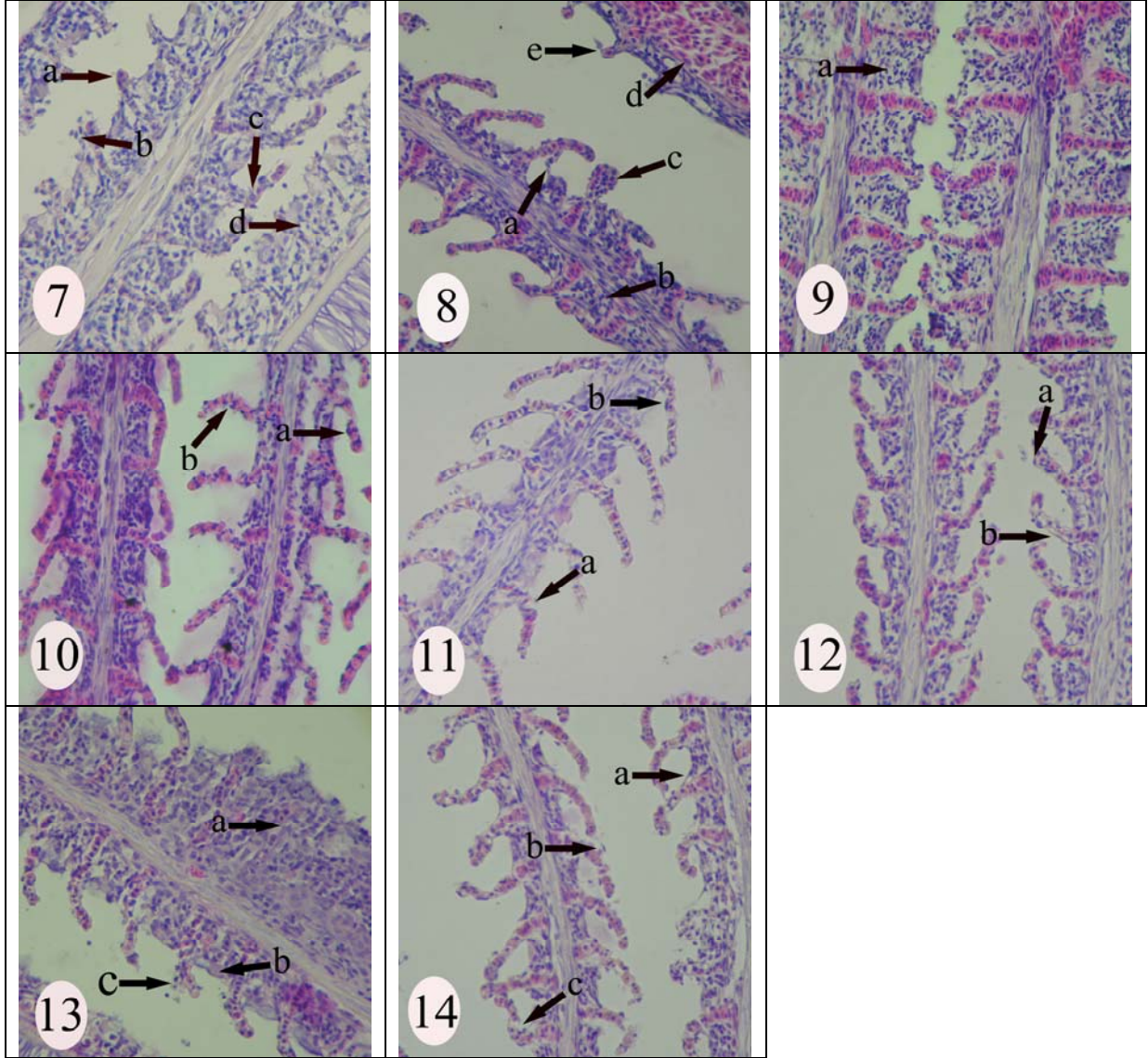
Resim 2 II. Grup (asetonlu kontrol) 20. gün, a; epitel hücresi, b; primer lamel, c; sekonder lamel, d; eritrosit, e; mukus hücresi, f; pillar hücresi, H&E x 400

Resim 3 III. grup 10. gün, a; epitel ayrılması, b; pillar hücre sisteminin kırılması, H&E x 400

Resim 4 IV. grup, 10. gün, a; epitel hipertrofisi, b; sinüzoidlerde dilatasyon, c; pillar hücre sisteminin kırılması, H&E x 400

Resim 5 V. grup, 10. gün, a; nekroz, b; sekonder lamelde kaynaşma, H&E x 400

Resim 6 VI. grup, 10. gün, a; aneurizm, b; epitel ayrılması, c; epitel hipertrofisi, H&E x 400



Resim 7 III. grup 20. gün a; atrofi, b; deskuamasyon ve nekroz , c; pillar hücre sisteminin kırılması, d; sekonder lamelin kaynaşması, H&E x 400

Resim 8 IV. grup 20. gün, a; epitel ayrılması, b; sekonder lamelde füzyon, c; aneurizm, d; sinüzoidlerde dilatasyon, e; atrofi, H&E x 400

Resim 9 V. grup 20. gün, a; sekonder lamelde kaynaşma, H&E x 400

Resim 10 VI. grup 20. gün, a; epitel hipertrofisi, b; sekonder lamelde kırılma, H&E x 400

Resim 11 III. grup iyileştirme a; sekonder lamelde kırılma, b; epitel hipertrofisi, H&E x 400

Resim 12 IV. grup iyileştirme a; epitel hipertrofisi, b; epitel ayrılması, H&E x 400

Resim 13 V. grup iyileştirme, a; sekonder lamelde kaynaşma, b; ödem, c; deskuamasyon, H&E x 400

Resim 14 VI. gr0up iyileştirme a; epitel ayrılması, b; deskuamasyon ve nekroz, c; sekonder lamellerin çökmesi, H&E x 400

Tablo 6. Solungaçlarda saptanan lezyonların kalitatif değerlendirmesi

Histolojik Değişiklikler	Süre	Gruplar					
		I	II	III	IV	V	VI
Epitel hiperplazisi	10.gün	-	-	+	-	++	-
	20.gün	-	+	++	+	+++	+
	35.gün	-	-	++	+	+++	+
Epitel hipertrofisi	10.gün	+	+	+	+	+	+
	20.gün	+	+	+	+	++	++
	35.gün	-	-	+	+	+++	++
Epitel deskuamasyonu	10.gün	-	-	+	-	++	+
	20.gün	-	-	+	+	+	+
	35.gün	-	-	+	+	+	+
Epitel nekrozu	10.gün	-	-	+	-	++	++
	20.gün	-	-	+	+	+++	+
	35.gün	-	-	+	+	+	+
Lamel epitelinin ayrılması	10.gün	-	-	+	+	++	++
	20.gün	-	-	+	+	+++	+
	35.gün	-	-	+	+	++	+
Sekonder lamellerde ödem	10.gün	-	-	+	+	++	++
	20.gün	-	-	+	+	+++	+
	35.gün	-	-	+	+	++	+
Aneurizm	10.gün	-	-	+	+	+	+
	20.gün	-	-	-	+	++	+
	35.gün	-	-	-	+	++	+
Primer lamellerdeki kan sinüslerinin dilatasyonu	10.gün	-	-	+	+	++	++
	20.gün	-	-	-	+	++	+
	35.gün	-	-	+	+	++	+
Sekonder lamellerin kaynaşması	10.gün	-	-	+	-	+	-
	20.gün	-	-	+	+	++	+
	35.gün	-	-	++	+	+++	+
Pillar hücre sisteminin kırılması	10.gün	-	-	+	-	+	+
	20.gün	-	-	++	+	+++	+
	35.gün	-	-	++	+	++	+
Sekonder lamellerin çökmesi	10.gün	-	-	+	-	+	+
	20.gün	-	-	++	+	++	+
	35.gün	-	-	+	+	++	+
Sekonder lamellerin atrofisi	10.gün	-	-	-	-	+	+
	20.gün	-	-	+	+	+++	+
	35.gün	-	-	+	+	++	+

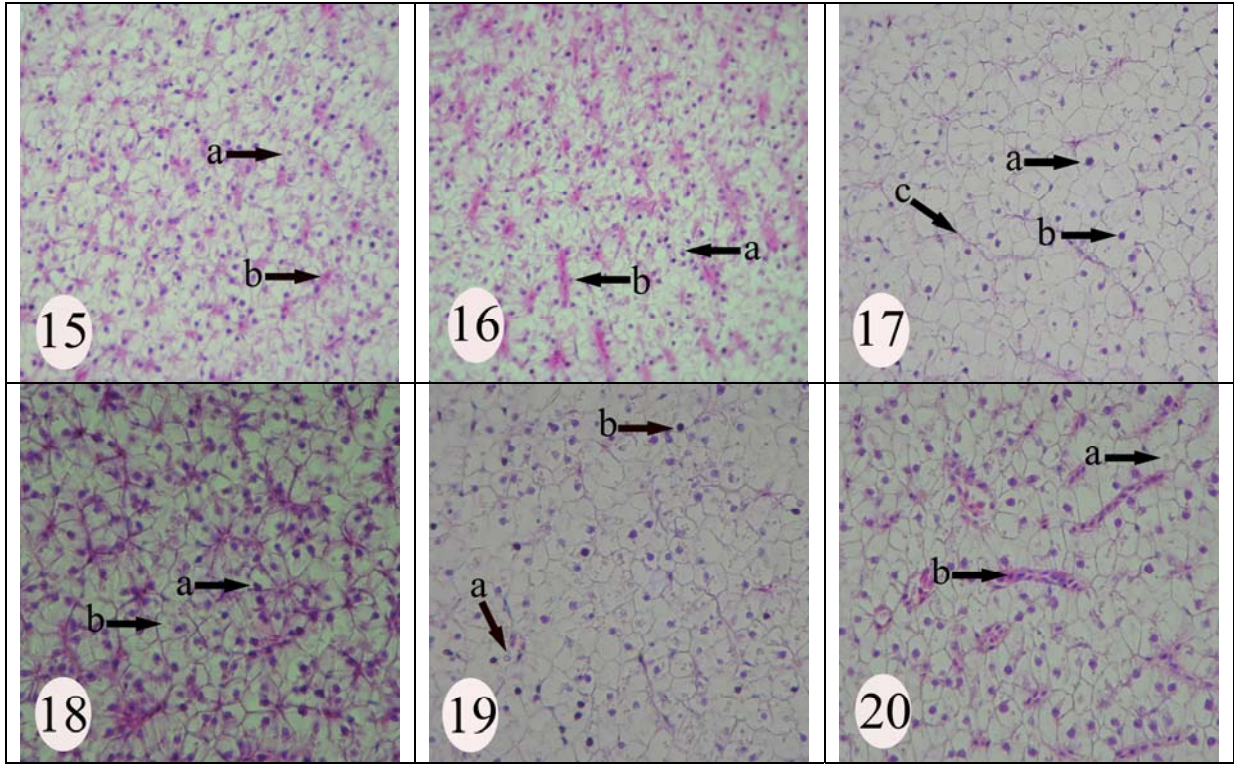
-, yok; +, düşük; ++, sık; +++, çok sık, (Thophon ve ark., 2003)

4.1.2.Karaciğer

4.1.2.1. Kontrol grupları: Karaciğer hepatik hücrelerden oluşur. Hepatositler genellikle bir nukleolus içeren küresel nukleuslu poligonal hücrelerdir. Hepatik arter ve portal ven mide ve barsaklardan karaciğere girer. Venöz kan taşıyan portal ven bölümlere ayrılır ve sonunda sinüsoid olarak bilinen geniş kan kapillerine bölünür. Hepatositler tarafından çevrilen sinüzoidler mononükleer fagositer sistem (MNS) hücreleri ile sınırlanmıştır.

Deneyde kontrol balıklarının karaciğerleri normal görünümündedir (Resim 15, 16).

4.1.2.2.Deney grupları: 10. 20. ve 35. günlerdeki farklı gruplardan histopatolojik uygulamaların semikantitatif sonuçları Tablo 7'de sunulmuştur. Uygulama evresinde bazı karaciğer lezyonları ve bunların iyileşme süreci sonundaki durumları Resim 15- 28'de gösterilmiştir. 10. günde tüm gruplarda görülen lezyonlardan biri piknotik çekirdektir (Resim 17,18,19, 22) ve iyileştirme sürecinde konsantrasyonun arttığı V. ve VI. gruplarda gözlenmiştir. Tablo 7'ye 10. günde IV.grupta sinüzoidlerde daralma, sinüzoidlerde kan tıkanması , nekroz ve yağ dejenerasyonu gözlenmemiştir (Resim 18). 20. günde IV.grupta (Resim 22), III. gruba (Resim 21) göre vakuoler dejenerasyon, piknotik çekirdek ve bulanık şişme durumlarında nispeten bir azalma saptanmıştır. VI. grupta ise sinusoidlerde daralma ve piknotik dejenerasyon dışında pek etki gözlenmemiştir. Nekroz aynı şiddette devam etmiştir (Resim 24). İyileştirme sürecinde sinüzoidlerde daralma, yağ dejenerasyonu ve vakuoler dejenerasyonda bir azalma saptanmıştır. İyileştirme sürecinde nekroz aynen devam etmiştir (Resim 26, 28). Ayrıca 35. günde IV. grupta belirgin olarak çift nukleuslu hücreler (rejenerasyon) tespit edilmiştir (Resim 26).



Resim 15 I. grup (kontrol) 20. gün, a; hepatosit, b; sinüzoid, H&E x 400

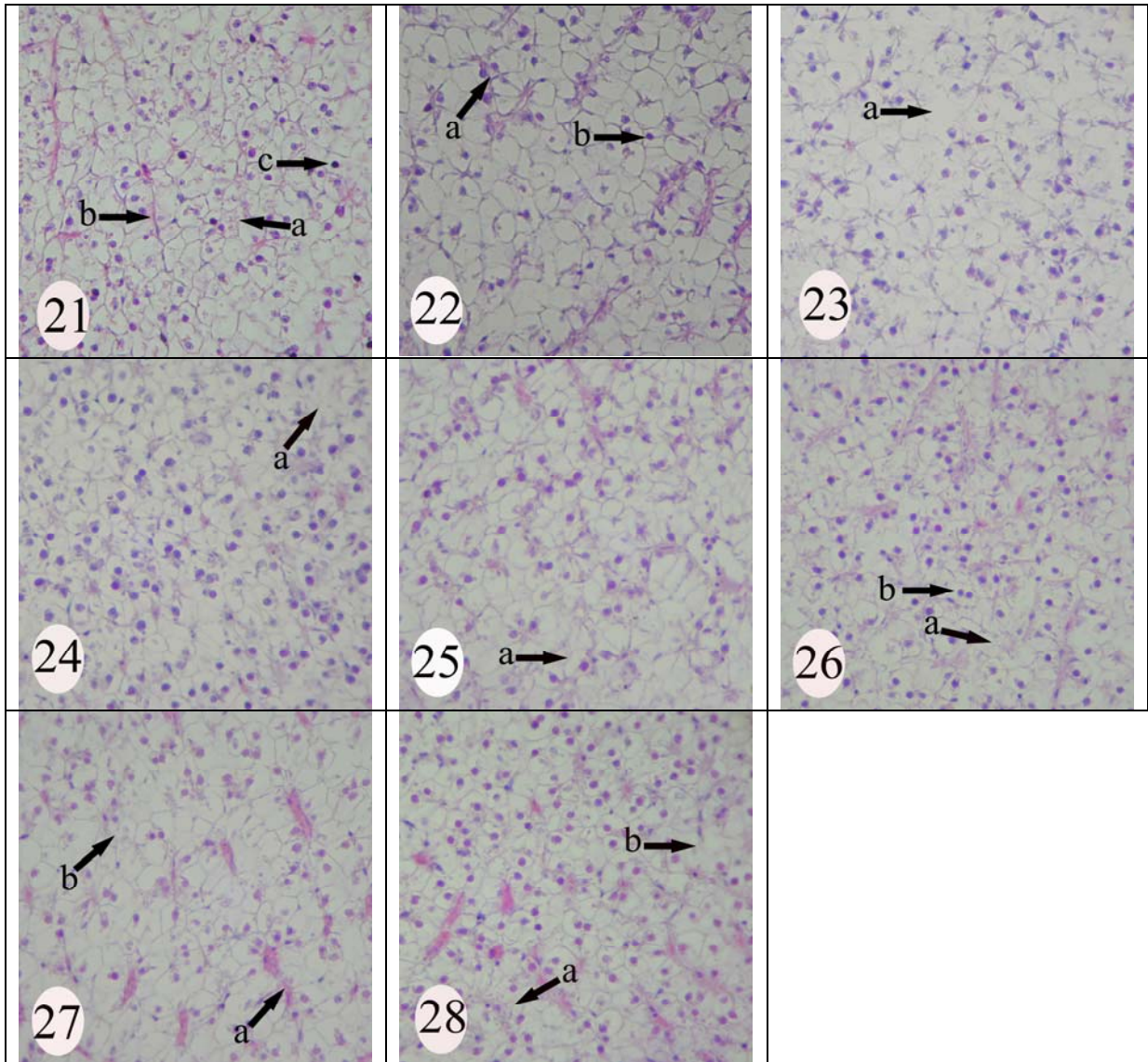
Resim 16 II. grup (asetonlu kontrol) 20. gün, a; hepatosit, b; sinüzoid, H&E x 400

Resim 17 III. grup 10. gün, a; hipertrofi, b; piknotik çekirdek, c; sinüzoidlerde daralma, H&E x 400

Resim 18 IV. grup 10. gün, a; piknotik çekirdek, b; bulanık şişme, H&E x 400

Resim 19 V. grup 10. gün, a; vakuoler dejenerasyon, b; piknotik çekirdek, H&E x 400

Resim 20 VI. grup 10. gün, a; vakuoler dejenerasyon, b; sinüzoidlerde konjesyon, H&E x 400



Resim 21 III. grup 20. gün, a; vakuoler dejenerasyon, b; sinüzoidlerde konjesyon, H&E x 400

Resim 22 VI. grup 20. gün a; hipertrofi, b; piknotik çekirdek, H&E x 400

Resim 23 V. grup 20. gün, a; nekroz, H&E x 400

Resim 24 VI. grup 20. gün, a; nekroz, H&E x 400

Resim 25 III. grup iyileştirme, a; hipertrofi, H&E x 400

Resim 26 IV. grup iyileştirme, a; nekroz, b; çift çekirdekli hücre (rejenerasyon), H&E x 400

Resim 27 V. grup iyileştirme, a; sinüzoidlerde konjesyon, b; bulanık şişme, H&E x 400

Resim 28 VI. grup iyileştirme, a; bulanık şişme, b; nekroz, H&E x 400

Tablo 7. Karaciğerde saptanan lezyonların kalitatif değerlendirilmesi

Histolojik değişiklikler	Süre	I.grup	II.grup	III.grup	IV.grup	V.grup	VI. grup
Yağ dejenerasyonu	10.gün	-	-	-	-	++	+
	20.gün	-	-	+	+	+	+
	35.gün	-	-	-	-	+	-
Nekroz	10.gün	-	-	-	-	++	+
	20.gün	-	-	+	+	+++	++
	35.gün	-	-	+	+	++	++
Bulanık şişme	10.gün	-	-	+	+	++	+
	20.gün	-	-	++	+	++	++
	35.gün	-	-	+	-	+	+
Piknotik çekirdek	10.gün	-	+	+	+	++	+
	20.gün	-	+	++	+	+++	+
	35.gün	-	-	-	-	+	+
Hipertrofi	10.gün	-	-	+	+	++	+
	20.gün	-	-	++	+	+++	++
	35.gün	-	-	+	+	+	+
Vakuoler dejenerasyon	10.gün	-	-	+	+	++	+
	20.gün	-	-	++	+	++	+
	35.gün	-	-	-	-	+	-
Sinusoidlerde daralma	10.gün	-	-	+	-	++	-
	20.gün	-	-	+	+	+	-
	35.gün	-	-	-	-	-	-
Sinüsoidlerde kan tıkanması	10.gün	-	-	-	-	++	+
	20.gün	-	-	+	+	+++	+
	35.gün	-	-	+	+	+	+

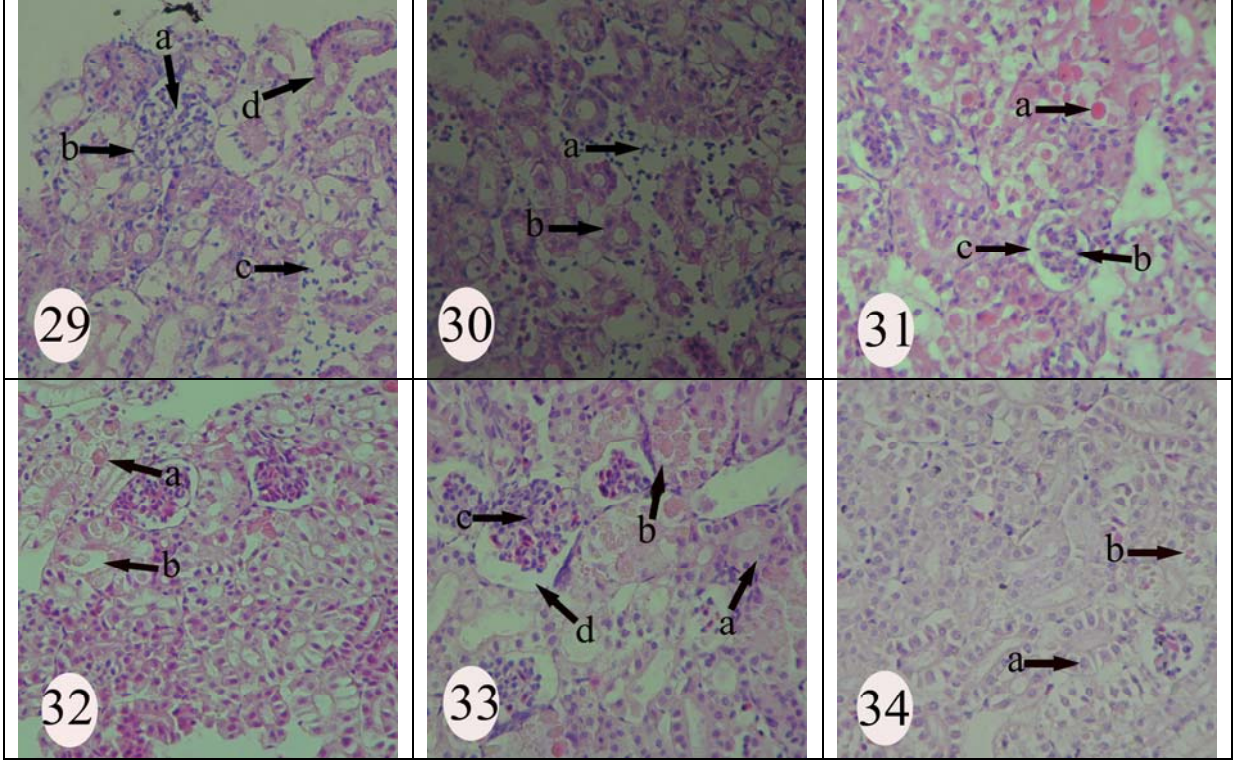
-,yok; +, düşük; ++, sık; +++, çok sık, (Thophon ve ark., 2003)

4.1.3. Böbrek

4.1.3.1. Kontrol grupları: Böbrek intestinal lenfoid ve nefronlardan oluşmaktadır. Teleost böbreğin nefronu renal korpüskül (glomerulus ve bowman kapsülü) ve renal tübül (proksimal segment ve distal segment) den oluşur. Glomerular kapsül tek tabakalı epitelyumun iç ve dış tabakalarından oluşur.

10. ve 20. gün sonunda dissekte edilen balıkların böbrek dokuları incelendiğinde anormal bir duruma rastlanmamıştır (Resim 29, 30).

4.1.3.2. Uygulama grupları: 10. 20. ve 35. günlerdeki farklı gruplardan histopatolojik uygulamaların semikantitatif sonuçları Tablo 8'de sunulmuştur. Uygulama evresinde bazı böbrek lezyonları ve bunların iyileşme süreci sonundaki durumları Resim 29-42'de gösterilmiştir. Konsantrasyon şiddetine bağlı olarak 10. gün III. grupta hiyalin damla dejenerasyonu ve glomerulus atrofisi gözlenmiştir (Resim 31). VI. grupta hiyalin damla dejenerasyonu ve nukleus hipertrofisi gözlenmiştir (Resim 32). V. grup 10. günde bulanık şişme (Resim 33) ve 20. günde hyalin damla dejenerasyonu (Resim 36) artmıştır. İyileşme sürecinde ise bunların şiddetinde bir azalma gözlenmiştir (Resim 41). Hemapoetik dokuda piknotik çekirdek 10. gün gözlenmemiş ancak 20. günde sadece IV. grupta gözlenmemiştir (Resim 36). İyileştirme sürecinde ise gruplarda hafif şiddette gözlenmiştir (Resim 39, 40). 10. gün III. ve IV. grupta nekroz gözlenmemiş (Resim 31, 32) ancak 20. gün tüm dokularda bu durum gözlenmiştir ve iyileşme sürecinde devam etmiştir (Resim 41,42).



Resim 29 I. grup 10. gün a; glomerulus, b; Bowman kapsülü, c; hemopoetik doku, H&E x 400

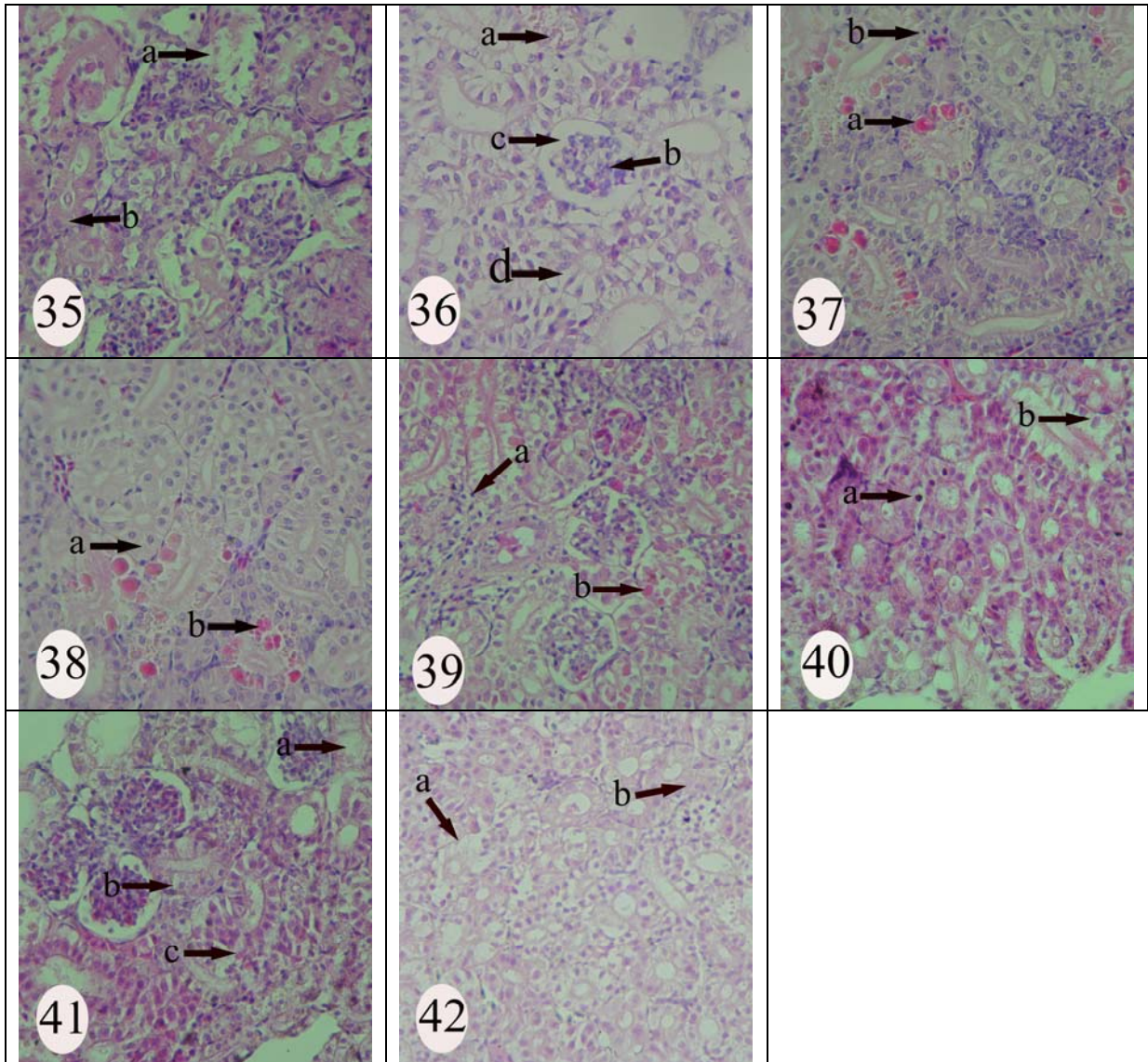
Resim 30 II. grup 10. gün a; hemopoetik doku, b; tübül epitei, H&E x 400

Resim 31 III. grup 10. gün a; hiyalin damla dejenerasyonu, b; glomerulus atrofisi, c; Bowman mesafesi genişlemesi, H&E x 400

Resim 32 IV. grup 10. gün a; hiyalin damla dejenerasyonu, b; nukleus hipertrofisi, H&E x 400

Resim 33 V. grup 10. gün a; bulanık şişme, b; hiyalin damla dejenerasyonu c; glomerulus atrofisi, d; Bowman mesafesi genişlemesi, H&E x 400

Resim 34 VI. grup 10. gün a; nukleus hipertrofisi b; hiyalin damla dejenerasyonu, H&E x 400



Resim 35 III. grup 20. gün, a; tübüler nekroz, b; bulanık şişme, H&E x 400

Resim 36 IV. grup 20. gün, a; hiyalin damla dejenerasyonu, b; glomerulus atrofisi c; Bowman mesafesi genişlemesi d; nukleus hipertrofisi, H&E x 400

Resim 37 V. grup 20. gün, a; hiyalin damla dejenerasyonu b; hematopoetik dokuda piknotik çekirdek, H&E x 400

Resim 38 VI. grup 20. gün, a; hiyalin damla dejenerasyonu, b; bulanık şişme, H&E x 400

Resim 39 III. grup iyileştirme 15. gün, a; hematopoetik dokuda piknotik çekirdek, b; hiyalin damla dejenerasyonu, H&E x 400

Resim 40 IV. grup iyileştirme 15. gün, a; hematopoetik dokuda piknotik çekirdek, b; nukleus hipertrofisi, H&E x 400

Resim 41 V. grup iyileştirme 15. gün, a; nekroz, b; bulanık şişme, c; hiyalin damla dejenerasyonu, H&E x 400

Resim 42. VI grup iyileştirme 15. gün, a; nekroz, b; bulanık şişme, H&E x 400

Tablo 8. Böbrek dokusundaki lezyonların kalitatif değerlendirilmesi

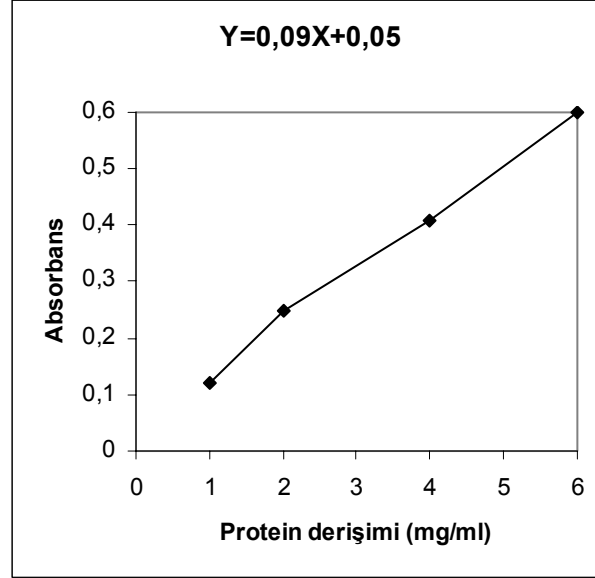
Histolojik Değişiklikler	Süre	Gruplar					
		I	II	III	IV	V	VI
Hücrel hipertrofi	10.gün	-	+	+	+	++	++
	20.gün	-	-	++	+	+++	+
	35.gün	-	-	+	+	++	+
Tübül lümeninde daralma	10.gün	-	-	+	+	++	+
	20.gün	-	-	++	+	+++	+
	35.gün	-	-	+	+	++	+
Bulanık şişme	10.gün	-	-	+	+	++	+
	20.gün	-	-	++	+	+++	+
	35.gün	-	-	+	+	++	+
Hyalin damla dejenerasyonu	10.gün	-	-	+	+	++	+
	20.gün	-	-	+	+	+++	+
	35.gün	-	-	+	+	+	+
Hücrel nekroz	10.gün	-	-	-	-	+	+
	20.gün	-	-	+	+	+++	++
	35.gün	-	-	+	+	++	++
Nükleus hipertrofisi	10.gün	-	-	+	+	++	+
	20.gün	-	-	++	+	+++	+
	35.gün	-	-	+	-	+	-
Glomerulusta atrofi	10.gün	+	+	+	+	++	+
	20.gün	-	-	++	+	++	+
	35.gün	-	-	+	-	+	-
Bowman mesafesi genişlemesi	10.gün	-	-	+	+	++	+
	20.gün	-	-	++	+	+++	+
	35.gün	-	-	++	+	++	+
Hematopoetik dokuda piknotik çekirdek	10.gün	-	-	-	-	-	-
	20.gün	-	-	++	-	+++	++
	35.gün	-	-	+	+	+	+

-, yok; +, düşük; ++, sık; +++, çok sık, (Thophon ve ark., 2003)

4.2. Biyokimyasal sonuçlar

4.2.1. Protein Düzeyi

İncelenen dokulardaki protein düzeyini belirlemek amacıyla protein standartları ile absorbansları arasındaki doğrusal ilişkiyi gösteren regresyon doğrusu kullanılmıştır.



Şekil 1. Protein derişimi ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki

Yumurta albümini çözeltilisinden hazırlanan protein standartlarının absorbans değerlerinden $Y=0,09X+0,05$ formülü elde edilmiştir. Burada X protein derişimi, Y absorbansı göstermektedir. Doku örneklerinin protein düzeyleri bu regresyon formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

Tilapia nilotica'nın karaciğer dokusu protein düzeyi üzerinde grupların ve sürenin etkisi Tablo 9'da sunulmuştur. Karaciğer protein düzeyi 10. 20. ve iyileştirme sürecinde önemli ölçüde etkilenmiştir. 10. ve 20. günde düşüş, iyileştirme evresinde ise yükseliş göstermektedir. 10. gündeki düşüş 20. günden daha fazla ve 7. ve 15. gündeki yükselişler aynı düzeydedir. 20. gün 6. grup dışındaki gruplarda 10. ve 20. günde, önemli ölçüde bir düşüş gerçekleşmiştir. Ancak 4. gruplardaki düşüş değerlerine göre daha azdır. 4. grup, 10. gündeki düşüş yaklaşık olarak %14 seviyesindedir. İyileştirme evresinde 7. ve 15. gün 4. gruptaki yükseliş değerlerine göre daha yüksektir. Yaklaşık olarak kontrole göre 7. ve 15. günde sırasıyla %31 ve %22 civarındadır.

Tablo 9. *Tilapia nilotica*' da karaciğer dokusu protein düzeyi (mg/g y.a.) üzerine gruplar ve sürenin etkisi

Gruplar	Süre			
	İyileştirme evresi		İyileştirme evresi	
	10	20	7	15
	Ort.±sx	Ort±sx	Ort±sx	Otr±sx
Grup-I	62.76±2.61ax	66.43±1.46ax	66.00±1.00ax	63.66±2.08ax
Grup-II	64.00±2.00ax	65.66±1.87ax	64.76±1.41ax	66.10±1.01ax
Grup-III	48.06±4.59bx	41.30±1.12bx	69.36±1.58cx	75.00±9.53cx
Grup-IV	53.13±6.31bx	49.96±4.67bx	81.90±10.01cx	77.63±14.19cx
Grup-V	28.86±11.71bxy	43.00±4.35by	74.73±0.64cy	74.93±8.28cy
Grup-VI	24.33±6.11bx	68.03±8.32bx	67.66±11,23cx	81.71±0.68cx

SNK a, b, c harfleri gruplar, x, y, z harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Ayrıca harfi içeren veriler arasında P<0. 05 düzeyinde istatistik ayrım yoktur. Ort.±sx: Aritmetik ortalama ± standart hata

Tilapia nilotica'nın kas dokusu protein düzeyi üzerinde grupların ve sürenin etkisi Tablo 10' da sunulmuştur. Kas dokusu protein düzeyi 10., 20. ve iyileştirme sürecinde önemli ölçüde etkilenmiştir. 10. ve 20. günlerde tüm gruplarda önemli bir düşüş saptanmıştır. 4. grup ise 20. günde kontrole yakındır. İyileştirme evresinde ise 5. grup dışında tüm gruplarda kontrole yakın değerler gözlenmiştir. Günleri karşılaştırdığımızda 10. gündeki düşüş 20. günden fazla ve 7. gündeki yükseliş 15. günden fazladır.

Tablo 10. *Tilapia nilotica*' da kas dokusu protein düzeyi (mg/g y.a.) üzerine gruplar ve sürenin etkisi

Gruplar	Süre			
	İyileştirme evresi		İyileştirme evresi	
	10	20	7	15
	Ort.±sx	Ort±sx	Ort±sx	Otr±sx
Grup-I	36.33±3.78ax	41.66±2.51ax	40.06±1.00ax	36.60±2.65ax
Grup-II	42.00±2.64ax	38.66±2.51ax	39.20±1.08ax	38.70±1.75ax
Grup-III	17.03±0.94bx	22.80±1.70bx	46.33±2.5cx	41.60±2.42cx
Grup-IV	35.26±5.64bx	40.76±0.92bx	70.00±7.81cx	45.83±1.75cx
Grup-V	18.80±1.90bxy	20.66±9.60by	34.30±4.85cy	43.06±3.76cy
Grup-VI	20.40±2.1bx	31.63±6.76bx	51.80±3.70cx	41.49±1.31cx

SNK a, b, c harfleri gruplar, x, y, z harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Ayrıca harfi içeren veriler arasında P<0. 05 düzeyinde istatistik ayrım yoktur. Ort.±sx: Aritmetik ortalama ± standart hata

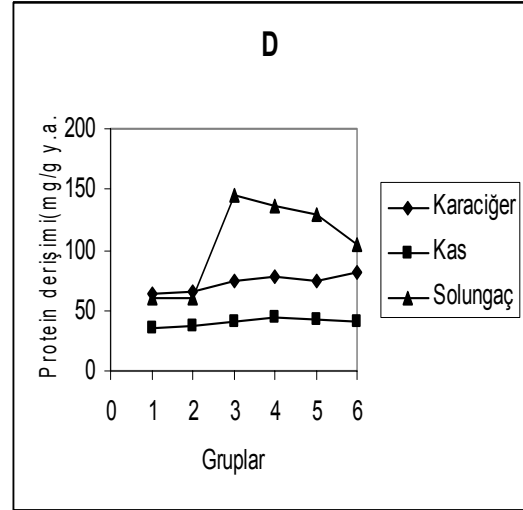
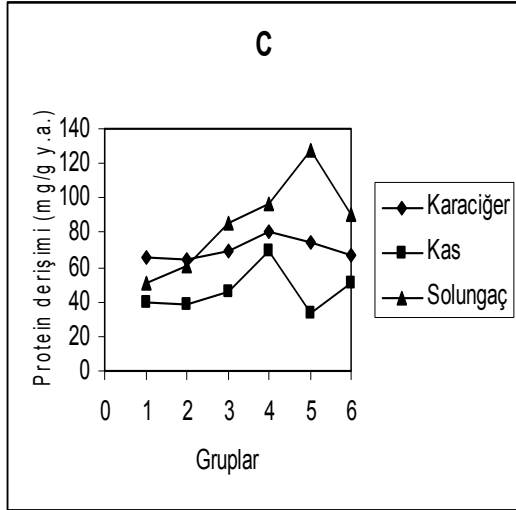
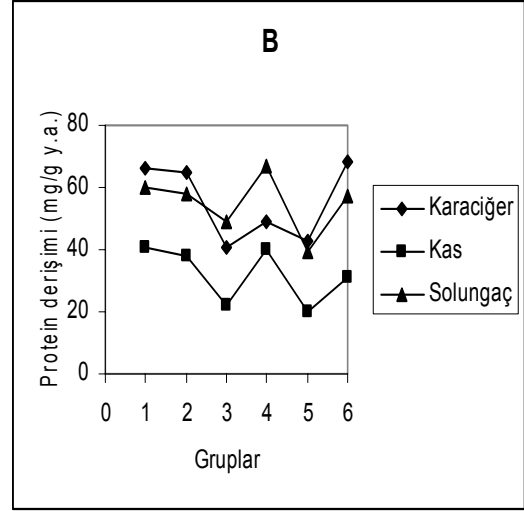
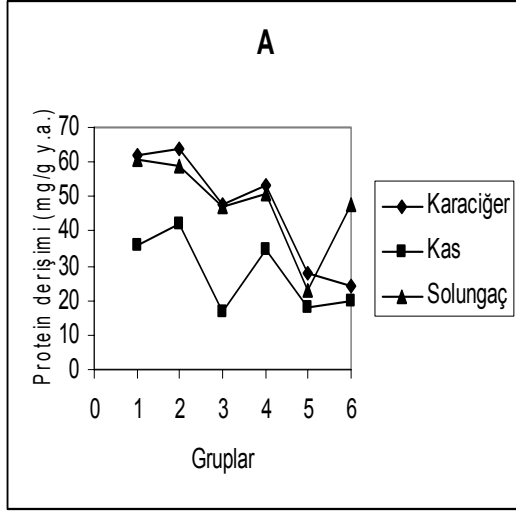
Tilapia nilotica'nın solungaç dokusu protein düzeyi üzerinde grupların ve sürenin etkisi Tablo 11'de sunulmuştur. Uygulama ve iyileştirme evresinde önemli ölçüde farklılıklar vardır. 10. ve 20. günde birbirine yakın miktarda bir düşüş 7. ve 15. günde birbirinden farklı düzeyde bir yükseliş saptanmıştır. 20. gün 4. ve 6. gruplar dışında 10. ve 20. günde, tüm gruplarda bir düşüş vardır. 20. günde 4. ve 6. grupta kontrole yakın değerler saptanmıştır. 7. ve 15. günde kontrole göre tüm gruplar yükselmiştir. En fazla yükseliş 3. grup 15. günde gözlenmiştir.

Tablo 11. *Tilapia nilotica*'da solungaç dokusu protein düzeyi (mg/g y.a.) üzerine gruplar ve sürenin etkisi

Gruplar	Süre			
	İyileştirme evresi		İyileştirme evresi	
	10	20	7	15
	Ort.±sx	Ort±sx	Ort±sx	Otr±sx
Grup-I	61.20±1.58ax	60.33±1.5ax	61.16±1.04ax	60.80±1.04ax
Grup-II	59.33±3.05ax	58.73±2.5ax	61.96±1.05ax	61.33±0.61ax
Grup-III	47.66±3.78bx	49.13±5.14bx	85.33±9.29cy	146.33±12.34cz
Grup-IV	51.8±3.10bx	67.66±2.51ax	97.33±28.02cy	136.00±10.00cz
Grup-V	23.33±4.04bx	39.66±3.05bx	128.00±20.29cy	129.33±5.50cz
Grup-VI	48.33±13.40bx	57.82±11.33ax	91.46±29.34cycz	105.41±37.08cz

SNK a, b, c harfleri gruplar, x, y, z harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Ayrıca harfi içeren veriler arasında $P < 0.05$ düzeyinde istatistik ayrım yoktur. Ort.±sx: Aritmetik ortalama ± standart hata

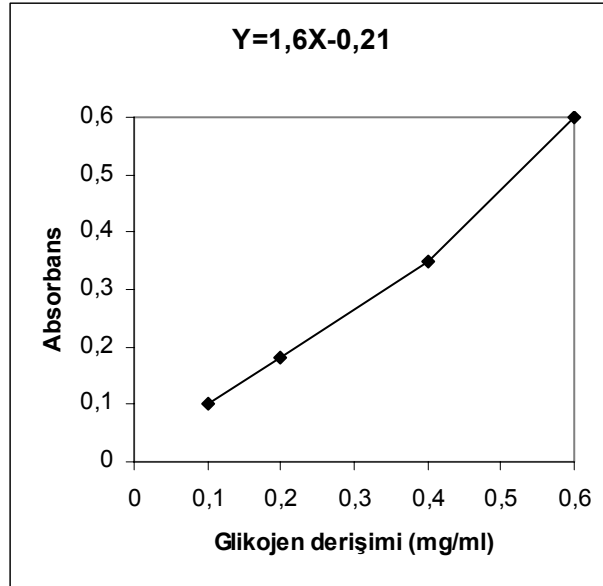
Grupların günlere göre farklı dokularda protein düzeyi üzerine etkileri Şekil 2 A, B, C ve D'de gösterilmiştir. 10. gün sonunda 4. grup dışındaki tüm dokularda doku protein düzeyi kontrole oranla düşmüştür. 4. grup kontrole yakın değerler göstermiştir (Şekil 2A). 20. günde 4. grup dışındaki gruplarda doku protein düzeyi kontrole göre düşmüştür (Şekil 2B). İyileştirme sürecinde 7. günde ise tüm gruplarda doku protein düzeyi artmıştır (Şekil 2C). İyileştirme sürecinin 15. gününde yine tüm dokularda protein düzeyi artmıştır (Şekil 2D).



Şekil 2. *Tilapia nilotica*'da (A) 10, (B) 20, (C) İyileştirme süreci 7, ve (D) İyileştirme süreci 15 günlük süre sonunda grupların doku protein düzeyi üzerine etkileri

4.2.2. Glikojen düzeyi

İncelenen dokulardaki protein düzeyini belirlemek amacıyla protein standartları ile absorbansları arasındaki doğrusal ilişkiyi gösteren regresyon doğrusu kullanılmıştır.



Şekil 3. Glikojen derişimi ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki

Taze glikojen çözeltisinden hazırlanan glikojen standartlarının absorbans değerlerinden $Y=1,6X - 0,21$ formülü elde edilmiştir. Burada X glikojen derişimi, Y absorbansı göstermektedir. Doku örneklerinin glikojen düzeyleri bu regresyon formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

Tablo 12. *Tilapia nilotica*' da karaciğer dokusu glikojen düzeyi (mg/g y.a.) üzerine gruplar ve sürenin etkisi

Gruplar	Süre			
	İyileştirme evresi		İyileştirme evresi	
	10	20	7	15
	Ort.±sx	Ort±sx	Ort±sx	Otr±sx
Grup-I	14.00±3.09ax	14.00±1.00ax	14.66±0.83ax	15.10±0.95ax
Grup-II	14.66±1.52ax	14.53±0.50ax	14.83±0.76ax	15.36±1.00ax
Grup-III	6.93±0.21bx	12.82±2.5bx	12.83±2.99cy	14.56±3.80ax
Grup-IV	7.93±1.16bx	13.23±3.54ax	29.93±7.5cy	23.33±0.65cz
Grup-V	8.3±1.77bx	8.63±0.41bx	22.13±4.54cy	16.80±3.30cz
Grup-VI	7.8±1.13bx	8.55±0.58ax	18.53±6.06cy	16.43±1.91cz

SNK a, b, c harfleri gruplar, x, y, z harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Ayrıca harfi içeren veriler arasında $P < 0.05$ düzeyinde istatistik ayrım yoktur. Ort.±sx: Aritmetik ortalama ± standart hata

Tilapia nilotica'nın kas dokusu glikojen düzeyi üzerinde grupların ve sürenin etkisi Tablo 12'de sunulmuştur. Uygulama ve iyileştirme evresinde önemli ölçüde farklılıklar vardır. 10 ve 20. günde düşüş, 7. ve 15. günde birbirine yakın bir yükseliş saptanmıştır. 10. günde tüm gruplarda bir düşüş, 20. günde 5. ve 6. gruplardaki düşüş 3. ve 4. gruptaki düşüşten daha fazladır. 3. ve 4. grupta kontrole yakın değerler vardır. İyileştirme evresinde ise 4. grupta diğer gruplara göre daha fazla artış saptanmıştır. Yaklaşık olarak 7. ve 15. günde sırasıyla %100 ve %86'dır.

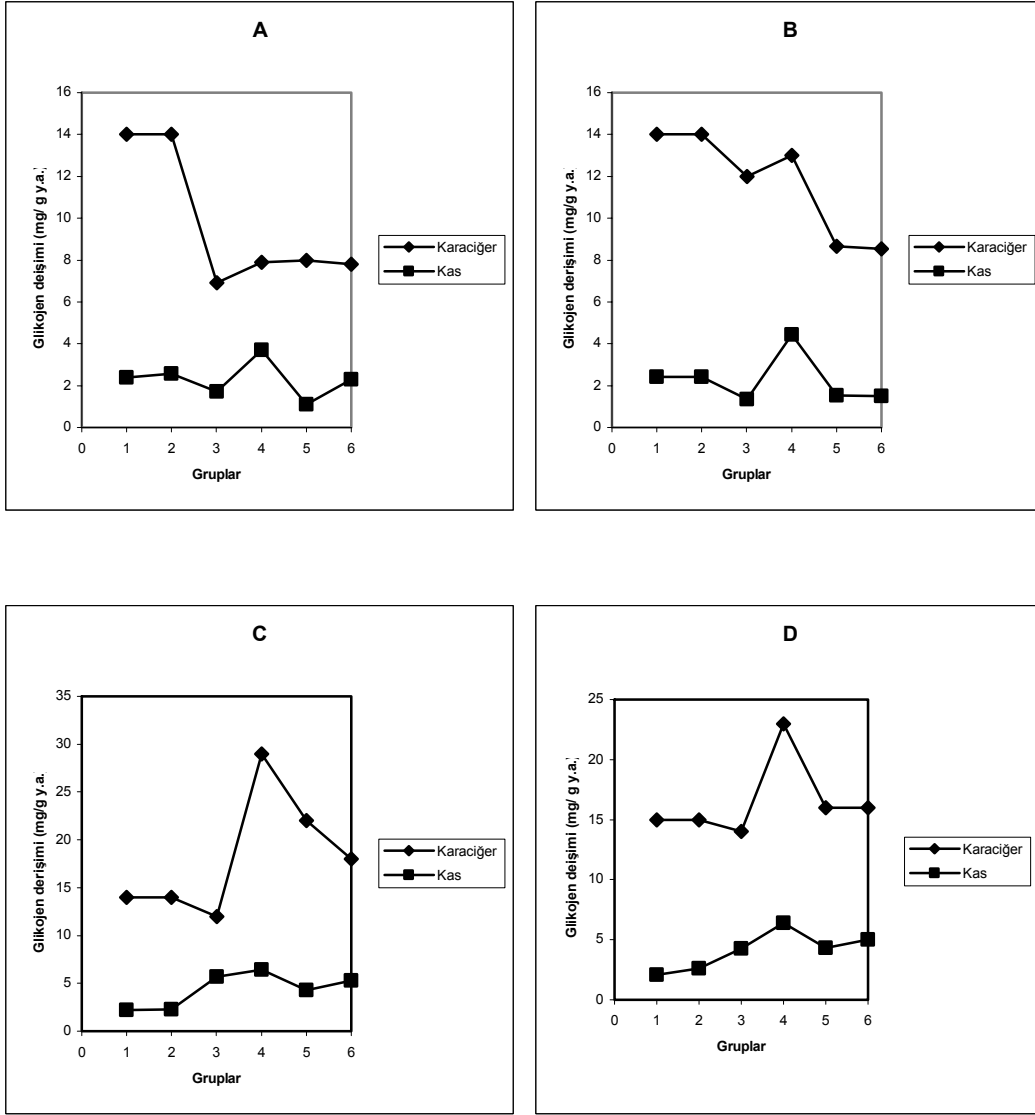
Tablo 13. *Tilapia nilotica*'da kas glikojeni protein düzeyi (mg/g y.a.) üzerine gruplar ve sürenin etkisi

Gruplar	Süre			
	İyileştirme evresi		İyileştirme evresi	
	10	20	7	15
	Ort.±sx	Ort±sx	Ort±sx	Otr±sx
Grup-I	2.41±0.35ax	2.43±0.37ax	2.20±0.26ax	2.13±0.23ax
Grup-II	2.56±0.20ax	2.43±0.20ax	2.36±0.32ax	2.6±0.30ax
Grup-III	1.07±0.20bx	1.34±0.28bx	5.07±3.43cy	4.25±1.17cy
Grup-IV	3.70±0.88cy	4.63±1.62cy	6.43±3.61cy	6.4±2.61cy
Grup-V	1.11±0.25bz	1.53±0.11by	4.33±0.55cy	4.33±0.65cy
Grup-VI	2.03±0.41ax	1.50±0.26by	3.6±0.52cy	5.03±1.15cy

SNK a, b, c harfleri gruplar, x, y, z harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Ayrıca harfi içeren veriler arasında $P < 0.05$ düzeyinde istatistik ayrım yoktur. Ort.±sx: Aritmetik ortalama ± standart hata

Tilapia nilotica'nın kas dokusu glikojen düzeyi üzerinde grupların ve sürenin etkisi Tablo 12'de sunulmuştur. Uygulama ve iyileştirme evresinde önemli ölçüde değişiklikler vardır. 10. ve 20. günde bir düşüş, 7. ve 15. günde bir yükseliş saptanmıştır. 10. ve 20. gündeki düşüş, 7. ve 15. gündeki artış birbirine yakın seviyededir. 4. grup dışında 10. ve 20. günde tüm gruplarda bir düşüş saptanmıştır. 10. gün 4. gruptaki artış yaklaşık olarak % 48 oranındadır. 10. gün 6. grupta ise diğer gruplara göre daha az bir düşüş vardır. Bu düşüş yaklaşık olarak %16'dır. 7. ve 15. günde tüm gruplarda kontrole göre bir artış saptanmıştır. En çok artış 4. grupta saptanmıştır.

Grupların günlere göre farklı dokularda glikojen düzeyinde yaptığı etki Şekil 5 A, B, C ve D'de gösterilmiştir. 10. gün sonunda kas ve karaciğer dokusunda glikojen düzeyinde 4. grup dışındaki gruplarda bir düşüş vardır. (Şekil 5A). 20. günde de 4. grupta kontrole yakın değerler gözlenirken diğer gruplarda kontrole göre düşüş vardır (Şekil 5B). İyileştirmenin evresinin 7. günü (Şekil 5C) ve 15. günü tüm gruplarda artış vardır (Şekil 5D).



Şekil 4: *Tilapia nilotica*' da (A) 10, (B) 20, (C) İyileştirme süreci 7, ve (D) İyileştirme süreci 15 günlük süre sonunda grupların doku glikojen düzeyi üzerine etkileri

5.TARTIŞMA

Yabancı bileşiklerin ilk temasa geçtikleri doku veya organlar, daha yüksek konsantrasyonlara maruz kaldıklarından, en çok zarar görebilme potansiyeline sahiptirler (Timbrell, 1991). Ayrıca, histopatolojik değişiklikler çoğunlukla metabolizma ve detoksifikasyonda yer alan organlarla sınırlıdır (Rashatwar ve Ilyas, 1984).

Bu çalışmada, pestisit uygulanan balıkların dokuları incelendiğinde; en fazla etkinin solungaçta, daha sonra sırasıyla böbrek ve karaciğer dokusunda olduğu gözlenmiştir. Cypermethrin uygulanan *T. nilotica*'ların solungaç dokularında epitel hiperplazisi, epitel nekroz, lamel epitelinin ayrılması, sekonder lamellerde ödem, aneurizm, primer lamellerdeki kan sinüslerinin dilatasyonu, sekonder lamellerin kaynaşması, pillar hücre sisteminin kırılması, sekonder lamellerin atrofisi ve sekonder lamellerin çökmesi gibi lezyonlar gözlenmiştir. Çalışmamızda solungaçlarda gözlenen değişiklikler, pestisitlerin uygulanma süresi ve konsantrasyonuna bağlı olarak artış göstermiştir. Ayrıca uygulanan askorbik asitli diyetle ilgili olarak histopatolojik lezyonların şiddetinde bir azalma söz konusudur. 10. gün askorbik asit ilaveli IV. grupta hiperplazi, deskuamasyon, nekroz, sekonder lamellerde kaynaşma ve pillar hücre sisteminin kırılması lezyonlarının görülmemesinin nedeni süreye bağlı olarak çok etkilenmemiş solungaç dokularında askorbik asitin etkili olması olabilir. İyileştirme sürecinde ise sekonder lamellerde kaynaşma ve pillar hücre sisteminin kırılması lezyonlarının gözlenmemesi askorbik asitin hem uygulamada hem de iyileştirmedeki etkisinden kaynaklanabilir. Kontrol gruplarının solungaç dokusundaki sekonder lamelleri çeviren epitel hücrelerinde hafif bir hipertrofinin gözlenmesi, balıkların laboratuvar ortamına getirilirken uygulanan anestezi maddeden ve laboratuvar ortamında içinde buldukları suyun fiziksel ve kimyasal özelliklerinden etkilendikleri şeklinde açıklanabilir. İncelenen dokular arasında en fazla zararın solungaçlarda gözlenmesi, bu organın balığın respiratör sistemi olmasından kaynaklanmaktadır. Respiratör sistemi, bir balığın akuatik çevre ile olan en geniş temas yüzeyini oluşturur. Bundan dolayı respiratör sistemi, kirleticiler tarafından etkilenen ilk kısımdır (Heath, 1987).

Temminck ve ark. (1983), solungaç lezyonlarını, toksik maddelerin direkt zararlı etkileri ve balığın savunma yanıtları olarak iki gruba ayırmışlardır. Epitel nekrozu ve solungaç epitelinin deskuamasyonu pestisit faaliyeti ile meydana gelen direkt zararlı etkiler olarak tanımlamışlardır. Epitelin kalkması ve lamellerin yapışmasını ise, balığın pestisite karşı

göstermiş olduğu savunma yanıtları olarak belirtmişlerdir. Bu çalışmada araştırılan pestisitlerin hem direkt zararlı etkileri, hem de balığın pestisite karşı göstermiş olduğu savunma yanıtları görülmüştür.

Lamellerin yapışması, kolayca zarar görebilen solungaçların yüzey alanının miktarını azaltmayı ve bu şekilde koruyucu olmayı amaçlamaktadır. Komşu sekonder lamellerin yapışması, lameller arasındaki epitel tabakasının hiperplazik reaksiyonu ile meydana gelmektedir. Hiperplazik doku, lameller arasındaki su aralarını doldurmak için gelişir. Bu yüzden solungaç hiperplazisi, toksikant-difüzyon mesafesinde bir artış ve respiratör yüzeyinde azalmaya yol açan bir savunma mekanizması olarak hizmet etmektedir. Sekonder lamellerin yapışması, solungaçların respiratör görevlerinin azalmasına neden olur.

Bu çalışmada, solungaçlarda gözlenen aneurizme, deltamethrin uygulanan *Cyprinus carpio*'da (Cengiz, 2006) ve *Gambusia affinis*'de (Cengiz ve Unlu, 2006) de rastlanmıştır. Aneurizm, pillar hücre sisteminin tamamen çökmesinden ve lamel epitelini dışarıya iten çok miktardaki kanın sekonder lamellerde birikmesi ile oluşan bir dolaşım bozukluğudur (Alazemi ve ark., 1996). Ödem oluşumu, lamel epitel hücrelerinin aşırı hipertrofi ve hiperplazisi, toksikant girişini azaltmak için solungaç ve dolayısı ile solunum yüzeyini en aza indirmeye hizmet etmektedir (Heath, 1987). Aynı zamanda, solungaç epitelinde gözlenen bu ödem, difüzyon mesafesini de arttırır. Difüzyon mesafesi, solungaçların normal respiratör fonksiyonunu etkiler (Karlsson-Norrgen ve ark., 1985). Bu çalışmada gözlenen sekonder lamellerdeki ödemli ayrılmalara, daha önceki çalışmalarda da rastlanmıştır (Erkmen ve ark., 2000; Velmurugan ve ark., 2007).

Bu çalışmada gözlenen respiratör epitelinin ayrılması, solungaç epitellerinin hipertrofisi ve komşu sekonder lamellerin hiperplaziden dolayı yapışması gibi histopatolojik değişiklikler; klorin dioksit ve dimecron uygulanan çeşitli balık türlerinde de gözlenmiştir (Yonkos ve ark., 2000; Sakthivel ve Gaikwad, 2001). Bu çalışmada saptanan epitel hücrelerinde gözlenen nekroza ise cyphenothrin uygulanan balık türlerinde de rastlanmıştır (Erkmen ve ark., 2000). Paraquatın *Puntius gonionatus*'ın solungaçlarında yol açtığı epitel hücrelerindeki vakuolleşmeye (Sinhaseni ve Tesprateep, 1987) bu çalışmada rastlanmamıştır. Karan ve ark. (1998), bakır sülfat uygulanmış *Cyprinus carpio*'nun solungaçlarında epitel hiperplazisi, sekonder lamellerin kıvrılması gibi lezyonlar gözlemişlerdir. Uygulama sonrası temiz suya bırakılan balıklardaki iyileşme sürecinde ise değişikliklerin çoğunun reversibl olduğu bunun yanında iyileşme periyodu sonrasında da solungaç histopatolojisi gözlemlendiği saptanmıştır.

Solungaç epitelinde gözlenen etkiler, pestisitlerin proteinleri denatüre eden maddeler olmasından kaynaklanmaktadır. Pestisitler proteinlerin hidrojen, hidrofobik ve elektrostatik bağlarını parçalar; fakat peptid ve disülfid bağlarını parçalayamazlar. Böylece kovalent olmayan bağlar parçalanırken biyolojik aktivite kaybolur. Bu yüzden balıklar üzerinde kirleticilerin toksik etkileri, bu organların hücresel organizasyonunu bozması yoluyla solungaçların oksidatif aktivitesinin değişmesine neden olmaktadır. Sudaki kirleticiler, balık solungaç epitelinde aktif iyon alınımından sorumlu olan Na^+ , K^+ ve ATPaz aktivitesini inhibe ederek geçirgenlik özelliklerini değiştirirler (Jagoe ve Haines, 1997). Bu değişiklikler, oksidatif metabolizma ve iyon regülasyonunu ters bir şekilde etkileyen ve sonunda ciddi oksijensiz şartlara yol açabilen respiratör bozukluğunun olası sebepleridir.

Bu çalışmada cypermethrin uygulanan *T. nilotica*'ların karaciğer dokularında sinusoidlerde daralma, sinusoidlerde kan tıkanması, vakuoler dejenerasyon, piknotik dejenerasyon, hipertrofi, nekroz, bulanık şişme, yağ dejenerasyonu gibi değişiklikler saptanmıştır.

Çalışmada saptanan hepatositler içerisindeki vakuollere, TCDD (2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin) uygulanan *Oncorhynchus mykiss*'de (Walter ve ark., 2000) ve endosulfan uygulanan *Gambusia affinis*'de (Cengiz ve ark., 2001) rastlanmıştır.

Sinüzoidlerin normal yapılarının bozulması, endosulfan (Cengiz ve ark., 2001) uygulanan balık türlerinde de saptanmıştır.

Bu çalışmada dokuda yenilenmenin bir göstergesi olan çift nukleuslu hücreler saptanmıştır. Bu durum dokunun mitotik aktivitesinin bir göstergesidir.

Karaciğere dışardan yabancı herhangi bir madde girdiğinde, karaciğerin detoksifiye edici özelliğinden dolayı asıl maddeden bir takım ara ürünler oluşmaktadır. Meydana gelen bu ürünlerin kovalent bağ ile karaciğer proteinlerine bağlandığı ve % 90 oranında proteinlerin fonksiyonlarını inhibe ettiği belirtilmektedir (Dansette, 1991). Hücreye giren reaktif ara ürünler; hücre zarında hasar meydana getirerek hücre ölümlerine neden olmaktadır. Hücre zarında tahribat sonucu meydana gelen hücre ölümlerinde, nekroz olarak adlandırılan patolojik durum meydana gelmektedir. Çalışmada gözlediğimiz nekroz TCDD (Walter ve ark., 2000) ve Fenvalerate uygulanan balıklarda da (Velmurugan ve ark., 2007) saptanmıştır. Nekroza uğrayan hücrelerin nukleuslarında da birtakım değişiklikler gözlenir. Kromatin yoğunlaşır (piknozis) ve kırılır (karyoheksis). Bazı durumlarda ise nukleus basit bir şekilde

solar ve çözümlü (karyolizis). Çalışmada, nukleuslarda piknotik durum saptanmıştır. Hepatosit nukleuslarında piknozun görülmesi, karaciğer dokusunda bir tahribatın meydana geldiğinin belirtisidir. Bu değişiklikler endosulfan (Nowak, 1996; Cengiz ve ark., 2001) uygulanan balık türlerinin nukleuslarında da saptanmıştır.

Pestisitlere maruz bırakılan balıklarda, en yaygın bir şekilde karşılaşılan karaciğer lezyonu, lipitlerin anormal birikiminin sonucu meydana gelen yağ dejenerasyonudur. Çalışmada gözlediğimiz yağ dejenerasyonu, TCDD (Walter ve ark., 2000) uygulanan balıklarda da tespit edilmiştir.

Yağ akümülyasyonu, toksik bileşiklere en yaygın bir hücreyel yanıttır. Genellikle trigliseritler halinde akümülyasyon gerçekleşir. Yağ akümülyasyonu, özellikle lipit metabolizmasında önemli bir role sahip olan karaciğer gibi organlarda yaygındır. Yağ dejenerasyonunda lipitler, hücrede geniş bir damla olarak ya da çok sayıda küçük damlalar halinde görünürler. Yağ akümülyasyonunun en yaygın nedenlerinden biri, hücrelerden lipit salınışının inhibisyonudur. Bu olay protein sentezinin inhibisyonu ile olur. Protein sentezinin inhibisyonu, hücre dışına lipit transportu için gerekli apoproteinlerin sentezini bloke etmektedir. Yağ akümülyasyonu, artan lipit sentezi ya da artan lipit alımıyla da olabilir (Timbrell, 1991).

Çalışmada karaciğerde yağ dejenerasyonunun gözlenmesi, pestisitlerin yağ metabolizmasını hızlandırarak yağ oluşumunun artması sonucu biriktiğini düşündürmektedir. Ayrıca, pestisitlerin protein sentezini inhibe etmeleri de lipit dejenerasyonuna neden olabilmektedir.

Karaciğerdeki yağ infiltrasyonu, pestisitlere maruz bırakılan balıklarda çok yaygın bir oluşum olup pestisitlerin hücre membranından hızlı geçişine büyük bir nedendir (Reddy ve Rao, 1989).

Karaciğer toksik maddeler için başlıca detoksifikasyon yeri olmasından dolayı, birçok hücreyel ve yapısal değişikliklerin de olması olasıdır. Karaciğerde gözlenen histopatolojik değişiklikler, pestisit biyodegradasyonu ve pestisit metabolizması için sorumlu olan enzimlerin stimülyasyon ve indüksiyonunun karaciğerde olmasından kaynaklanmaktadır. Bu gibi histopatolojik değişiklikler, karaciğerin fonksiyonel yeteneğinde bir azalmaya yol açabileceği gibi, bir çok organ sisteminin işleyişini de etkileyebilir. Sarkar ve ark. (2005), cypermethrin ve carbofuran uygulanmış *Labeo rohita*'da nekroz, hiperplazi, sinüzoidlerde tıkanma, kordal düzensizlikler, nüklear dejenerasyon gözlemiştir. Uygulama sonrası temiz

suya bırakılan balıklarda iyileşme sürecinde ise normale geri dönmek için uzun bir süreç gerekli olduğu için tamamen iyileşme gözlememişlerdir. Yapılan çalışmada karaciğerde askorbik asit uygulanan gruplarda hem koruyuculuk hem de iyileştiricilik bakımından tam bir iyileşme ve koruyuculuk söz konusu değildir. Düşük dozda cypermethrin uygulanan gruplarda askorbik asit kısmen koruyucu etki göstermiştir. Cypermetrin konsantrasyonunun yüksek olduğu gruplarda koruyucu ve iyileştirici etki daha az gözlenmiştir. Buda uygulanan askorbik asit miktarından ve iyileştirme periyodu süresinin kısalığından kaynaklanmış olabilir. Geri dönüşümü olan lezyonlarda bir iyileşme gözlenirken geri dönüşümü olmayan lezyonlar aynı şekilde devam etmiştir.

Cypermethrin uygulanan *T. nilotica*'ların böbrek dokularında hücrel hipertrofi, tübül lümeninde daralma, bulanık şişme, hemapoetik dokuda piknotik çekirdek, Bowman mesafesinin genişlemesi, glomerulusta atrofi, nukleus hipertrofisi, hücrel nekroz, hiyalin damla dejenerasyonu gibi değişiklikler saptanmıştır. 20. günde hemapoetik dokuda piknotik çekirdek gözlenmemesi askorbik asitin koruyucu etkisinden olabilir. İyileşme sürecinde ise gruplarda hafif şiddette gözlenmesinin nedeni askorbik asit ilavesi nedeniyle lezyonlar bir azalma göstermiş olabilir.

Böbrekler solungaçlardan sonra kanın en büyük oranını içermektedir ve bu yüzden renal lezyonlar çevresel kirliliğin iyi bir indikatörü olarak kabul edilmektedir (Ortiz ve ark., 2003). Pestisitler gibi toksik olaylara balığın maruz bırakılması sonrasında glomerulus ve tübül epiteli seviyesinde histolojik değişiklikler meydana gelebilir (Teh ve ark., 1997). Mandal ve Kulshrestha (1980) Sumithiona maruz bırakılmış *Clarias batrachus*'ta nefropatolojiyi incelemişlerdir. Pestisit, balığın böbreğinde glomerulus dejenerasyonu ve hücre epitelinde vakuol oluşumu gibi değişiklikler meydana getirmiştir. Elsan uygulanmış *Channa punctatus*'ta glomerulus ve bowman kapsülünün boyutunda küçülme, tübüllerin düzenini kaybetmesi ve karyolizis gözlenmiştir (Banerjee ve Bhattacharya, 1994). Malathion ve Sevin uygulanmış *Cyprinus carpio*' nun renal hücrelerinde hipertrofi, nukleus yapısındaki değişiklikler, vakuol oluşumu, nekroz ve renal elemanlarda dejenerasyon fark edilmiştir (Dhanapakiam ve Premlatha, 1994). Das ve Mukherjee (2000), hezklorsikloheksan uygulanmış *Labeo rohita*'da hücrelerin çekirdeklerinde karyolizis ve karyohekzis ile nekrotik değişiklikler saptamışlardır. Tilak ve ark. (2001) Fenvalerate uygulanmış *Ctenopharyngodon idellus*'un böbrek dokularında stoplazmada granüller, vakuol dejenerasyonu, hücrel hipertrofi, renal tübüllerde bulanık şişme ve şiddetli nekroz gözlemişlerdir. Ortiz ve ark. (2003) Lindan uygulanmış balığın böbreklerinde tübül epitel hücrelerinde vakuol oluşumu,

nekroz ve deskuamasyon gözlemiştir. Cengiz (2006), deltamethrin uygulanmış *Cyprinus carpio* dokularında tübül lümeninde daralma, renal tübül epitel hücrelerinde dejenerasyon, hemapoetik dokuda piknotik çekirdek, glomerular kılcallarda dilatasyon, glomerulus dejenerasyonu, renal tübül epitel hücrelerinin stoplazmalarında vakuol oluşumu gözlemiştir.

Baskaran ve arkadaşlarına (1989) göre herhangi bir canlı hayvanda toksik etkiler, biyokimyasal ve moleküler seviyelerde değişiklikler meydana getirirler. Bu yüzden normal biyokimyasal parametrelerdeki değişiklikler akuatik hayvanların kan, kas ve karaciğerinde toksik etkilerin en erken indikatörleri olarak sunulabilirler (Omkar, 1985). Biyokimyasal parametreler çoğu stres ajanlarının subletal konsantrasyonlarına çok hassastırlar ve özel yanıtlara spesifik olmaları onların dezavantajıdır. Bu sebeple organizmalarda bir stres durumunu tayin etmek için genel parametreleri (glikojen) seçmek daha iyidir (Giesy ve ark., 1983). Bir toksikantın subletal konsantrasyonlarına maruz kalan bir hayvanda stres meydana gelebilir ve normal hayvan fizyolojisi bozulabilir. Doku glikojen ve protein seviyeleri bir toksikanta maruz kalma sonrası genellikle değişebilir. Bu fizyolojik parametreler farklı bileşiklerin balıklarda meydana getirdiği subletal etkileri tayin etmek için iyi indikatörlerdir (Dhavale ve Masurekar, 1986). Akuatik organizmada bu değişiklikleri yansıtan biyokimyasal indikatörlerin gelişimi çevreye salınan kirleticilerin etkilerinden haberdar olmada büyük bir fayda sağlamaktadır (Haya ve ark., 1985).

Proteinler hücresel fonksiyonlarda ve hücre yapısında önemli görevleri olan organik bileşiklerdir. Hücrenin yenilenmesi, büyümesi, biyokimyasal reaksiyonlarını gerçekleştirebilmeleri ve hemostatik dengenin sağlanması için proteinlere gereksinim vardır. Pestisitlerin vücuda alınması sonucu oluşan stres sürecinde organizma gereksinim duyduğu fazla miktardaki enerjiyi karşılamak için proteinleri kullanabilir ve proteinlerin hidrolizi arttırılarak amino asitlere dönüşümüne neden olabilir (Jayantha-Rao ve ark., 1984; Heath, 1995). Endosülfan etkisinde kalan balığın kas dokusu protein miktarındaki azalmanın nedeni, Gill ve ark. (1990-b) tarafından karbonhidrat metabolizmasındaki oluşan bozukluktan dolayı gereken enerji ihtiyacını karşılamak üzere öncelikle kas proteinlerinin kullanılması olarak bildirilmiştir. *Tilapia nilotica*'nın kas, karaciğer ve solungaç dokularında protein miktarı, malathionun protein sentezleme yeteneğini azaltması sonucu düşmüş (Sahib ve ark., 1984), benzer şekilde *B. rerio*'da gözlenen karaciğer protein düzeyinin düşmesi, Kumar ve Ansari tarafından (1986) malathionun DNA ve RNA sentezini inhibisyonu sonucu olduğu belirtilmiştir.

Barbus conchoni'da endosulfanın karaciğer dokusu protein düzeyini artırması detoksifikasyon enzimlerinin sentezinin artmasıyla açıklanmıştır (Gill ve ark., 1990-b). 4 hafta boyunca endosulfana maruz kalan *Barbus conchoni*'un protein ve glikojen içeriği maruz kalmayan kontroller ile karşılaştırmada azalma göstermiştir. Endosulfan maruzunu izleyen bir haftalık temiz su içerisindeki iyileşme periyodu sırasında protein ve glikojen seviyesinde yükselme gözlenmiştir (Gill ve ark. 1990-b). Fenvalerate uygulanan *Cyprinus carpio* 'nun dokularında bir protein düşüşü gözlenmiştir (Reddy ve Bashamohideen, 1988). Benthocarb uygulanmış *Tilapia mossambica* 'nın protein düzeyinde bir düşüş saptanmıştır ve bunun nedeni proteolizis seviyesinin yükselmesine bağlanmıştır. Pestisit protein etkileşimi pestisit biyokimyası alanında önemli bir katkı sağlar çünkü proteinler hücre yapısında ve aynı zamanda hücre fizyolojisinde yer alır. Malathiona maruz kalan *Cyprinus carpio*'da karaciğer protein metabolizmasında önemli değişiklikler kaydedilmiştir. 7 ve 15 gün boyunca maruz kalan balıklarda total, yapısal ve eriyebilir proteinlerin azaldığı, fakat 30 gün boyunca maruz kalan balıklarda bütün değerlerin normale yaklaştığı rapor edildi (Reddy ve Philip, 1991). Total, yapısal ve eriyebilir proteinlerdeki azalma yüksek bir protein hidrolitik aktivitesinin varlığını gösterir ve bu protein sentezinin bozulması yüzünden olabilir. Protein seviyelerindeki azalmalar proteinlerin degradasyonu yüzünden de olabilir. Degradasyon ürünleri pestisit stresi sırasında artan yüksek enerji isteği ile başa çıkmak için aminotransferaz sistemi sayesinde trikarboksilik asit döngüsünü destekleyebilir (Reddy ve Bashamohideen 1988). Reddy ve Philip (1991)'e göre karaciğer, diğer dokulardan daha fazla etkilenir. Çünkü detoksifikasyon için metabolik merkezdir. Daha büyük pestisit kalıntılarını absorblamada görev alır.

Askorbik asit; sucul peroksit radikalleri, süperoksit anyonları ve hidroksil radikalini kapsayan serbest radikallerin temizlenmesinde etkili, suda çözülebilir bir vitamindir. Serbest radikallerin azalması için bir elektronun katkısı ile koruma sağlar ve anti-ageing iki elektron gibi davranır, böylece biyolojik moleküllerle reaksiyona girmeden önce hücre dışı sıvıda bu molekülleri nötralize eder. (Carr ve Frei, 1999; Evans ve Halliwell, 2001). Askorbik asit bazı dokularda yaşlanmayı azaltıcı güç olarak hareket eder ve bu yüzden büyüme, immünite, stres ve enfeksiyon olaylarına tepki ve üremeyi içeren fizyolojik süreçlerde gereklidir (Verlhac ve ark, 1998).

Tilapia nilotica'nın kas, karaciğer ve solungaç dokularındaki uygulama evresinde askorbik asit uygulanan 4. grup dışındaki gruplarda protein seviyesinin düşmesi pestisitleri detoksifiye etmek için kullanılan enzimlerin indüksiyonu yada enerji gereksinimi için

kullanılan glikojen tükenmesi durumunda proteaz aktivitesinin artmasıyla proteinlerin amino asitlere dönüşmesi sonucu olabilir. 4. grupta ise (askorbik asit ilaveli) protein seviyesinin kontrole yakın değerler göstermesi askorbik asitin detoksifikasyon enzimlerinin sentezini arttırması sonucu olabilir. Konsantrasyon şiddetinin arttığı 6. grupta ise askorbik asit seviyesi pestisit toksitesine karşı detoksifiye enzimlerinin gerekli miktarda üretimi için yeterli seviyede olmaması nedeniyle protein seviyesi azalmış olabilir. İyileştirme evresinde ise tüm gruplarda özellikle 4. grupta protein seviyesinin artması C vitamininin detoksifikasyon enzimlerini arttırması ve hücre organellerinin tamiri için iyileştirici olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Proteinlere hücre organellerinin tamiri, doku rejenerasyonu ve hücre zarlarının bir sonucu olarak kaybolan enzimlerin indüksiyonu yada hücre zarlarının bir sonucu olarak harcanan enzim indüksiyonu için ihtiyaç duyulur (Gill ve Pande, 1991).

Karbonhidratlar hayvanlar üzerine uygulanan stres şartlarına yanıt olarak azalan organik besinler arasında ilk olarak düşünülmektedir. Hayvanlarda enerjinin en büyük kaynağının protein olmasına rağmen stres yada şiddetli hypoxia kas ve karaciğerde depo edilen karbonhidratların azalmasına sebep olur (Rani ve ark. 1989). Stres oluşumuna neden olan durumlarda katekolaminlerin salınımının artması, glikojenin kan şekere dönüşümüne neden olmaktadır (Nakano ve Tomlinson, 1967; Heath, 1995). Pestisitlerin önemli etkilerinden biri de balıklarda oksijen alımını azaltması ve dokularda süksinat dehidrojenaz aktivitesini azaltarak aerobik solunumdan anaerobik solunuma geçilmesine neden olmasıdır. Organizmanın hiperaktivite karşısında gereksinim duyduğu enerjiyi anaerobik solunumla sağlama yoluna gitmesi, daha fazla yakıt molekülünün kullanılmasını gerektirmektedir. Bu yüzden doku glikojen düzeyinin düşmesi doğaldır. Bununla birlikte bu koşullarda organizmanın savunma mekanizması, glikojen depolarının korunmasını sağlamak üzere pestisitlerin oluşturduğu stres sırasında katekolaminlerin salınımının arttırarak glikoneogenesisi güçlendirmektedir (Sastry ve Siddiqui, 1983; Hanke ve ark., 1983). Glikojen enerji üretimi için çok uygun oldukları için enerji rezervlerinin kaybolması ile sonuçlanarak hızlı bir şekilde katabolize olur. Bu durum stres altındaki gökkuşağı alabalığında katekolaminlerin salgısında bir artış göstermiştir (Nakano ve ark., 1967).

Balıklarda stresli durum karbonhidrat metabolizmasında karışıklık meydana getiren nöroendokrin yanıt sergiler. Hem katekolaminler hemde adrenokortikosteroidler, stres uyarmak ve balıkların karbonhidrat enerji rezervlerinde belirgin değişiklikler meydana getirmekten dolayı aşırı miktarlarda salgılanmaktadır (Larsson, 1973). Bu yüzden

kimyasallara maruz kalan balıkların karaciğer ve kas dokusunda belirli bir glikojenolizis, katekolaminlerin stres meydana getiren artışı yüzünden olabilir. Karaciğer ve kasta gözlenen glikojen azalması Omkar ve ark. (1985), tarafından önerildiği gibi glikolitik yol sayesinde glikojenden artan yararlanma yüzünden de olabilir. Diğer taraftan glikojende gözlenen azalma glikogeneogenesisin azalan oranı yüzünden ya da glikojen sentezinin hızlı turnover yüzündende olabilir (Rani ve ark 1989). Endosulfana maruz kalan *Anguilla anguilla*'nın karaciğer glikojeninde (Gimeno ve ark., 1994), monocrotophos ve amonyum kloridin sublethal konsantrasyonlarına maruz kalan *Oreochromis mossambicus*'un karaciğer ve kas glikojen miktarında bir azalma gözlenmiştir. Azalan glikojen miktarı, enerji stoklarının metabolik gereksinmeler sırasında (glikojenin piruvat ve laktata dönüşümü ve sonra stres şartları esnasında enerji gereksinimlerini karşılamak için) kullanılması yüzünden olabilir (Vijayavel ve ark., 2006).

Askorbik asit ilaveli diyetle beslenmiş *Clarias gariepinus*' ta deltamethrin uygulaması sonucu kontrol grubuna ait balık örnekleri ile pestisit uygulanmış balık örnekleri arasında karaciğer glikojen ve kan glikoz seviyesi arasında önemli farklar olmadığı saptanmıştır. Ancak daha düşük seviyeli askorbik asit ilaveli diyetle beslenen balıkta askorbik asitin pek etkili olmadığı gözlenmiştir (Datta ve Kaviraj, 2003). Agrawal ve ark. (1978) yüksek askorbik asidin, genç balıklarda aldrin toksisite toleransını yükselttiğini saptamışlardır. Cypermethrinin sublethal konsantrasyonu uygulanan *Clarias batrachus*'un karaciğer ve solungaç dokularında uygulama esnasında 1. ve 5. gün azalan glikojen miktarı 10. gün artış göstermiş ve tatlı suda iyileştirme sürecinde artış not edilmiştir (Begum, 2005). Glikojen içeriğindeki benzer azalma pestisit uygulanmış *Carassius auratus*'ta Bretaud ve ark. (2002) tarafından da saptanmıştır.

Bu çalışmada *Tilapia nilotica*'nın kas ve karaciğer dokularında uygulama evresinde askorbik asit uygulanan 4. grup dışında glikojen seviyesinin düşmesinin nedeni glikojenolizis yoluyla enerji ihtiyaçlarının karşılanması sonucu olabilir. IV. grupta ise askorbik asit ilavesi strese karşı toleransı arttırmış olabilir. VI. gruptaki düşüş ise uygulanan konsantrasyon için askorbik asit ilavesinin yeterli gelmemesinden kaynaklanıyor olabilir. İyileştirme evresinde tüm gruplarda glikojen seviyesinin artması askorbik asitin katekolaminlerin salınımını arttırması sonucunda glikoneogenezi arttırmasından kaynaklanabilir.

Pestisit toksisitesinin balıklara olan biyokimyasal ve histopatolojik açıdan etkileri daha önceki çalışmalarda yeterince incelenmiştir. Askorbik asitin organizmanın büyümesi üzerine olan etkileri de daha önceden bilinmekte idi. Ancak askorbik asitin pestisit toksisitesine karşı koruyuculuğu ve iyileştiriciliği üzerinde daha önceki çalışmalarda

biyokimyasal ve özellikle histopatolojik bulgular mevcut değildir. Bu çalışma bu özelliği ile daha sonraki çalışmalara öncül olabilir.

6.KAYNAKLAR

- AGRAWAL, N.K., JUNEJA, C.J., MAHAJAN, C.L., 1978. Protective Role of Ascorbic Acid in Fishes Exposed to Organochlorine Pollution. Toxicology, 11, 369-375.
- ALAZEMI, B.M., LEWIS, J.W., ANDREWS, E.B., 1996. Gill Damage in the Freshwater Fish *Gnathonemus ptersii* (Family: Mormyridae) Exposed to Selected Pollutants: An Ultrastructural Study. Environ. Technol. 17, 225-238.
- ALMEDIA, J.A, DINIZ, Y.S., MARQUES, S.F.G., FAINE, L.A., RIBAS, B.O., BURNEIKO, R.C., NOVELLI, E.L.B. 2002 . The Use of the Oxidative Stress Responses as Biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) Exposed to In Vivo Cadmium Contamination. Environ. Intern. 27 (8), 673-679.
- ARNOLD, H., PLUTA, H.J., BRAUNBECK, T., 1995. Simultaneous Exposure of Fish to Endosulfan and Disulfoton In Vivo: Ultrastructural, Stereological and Biochemical Reactions in Hepatocytes of Male in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Liver. Aquat. Toxicol. 33, 17-43.
- BANERJEE, S., BHATTACHARYA, S., 1994. Histopathology of Kidney of *Channa punctatus* Exposed to Chronic Nonlethal Level of Elsan, Mercury and Ammonia. Ecotoxicol. Environ. Saf. 29, 265–275.
- BASKARAN, P., PALANICHAMY, S.,VISALAKSHI, P. ve BALASUBRAMANIAN, M.P., 1989. Effects of Mineral Fertilizers on Survival of the Fish *Oreochromis mossambicus*, Environ. Ecol. 7, 463–465.
- BEGUM, G., 2005. In Vivo Biochemical Changes in Liver and Gill of *Clarias batrachus* During Cypermethrin Exposure and Following Cessation of Exposure. Pestic. Biochem. Physiol. 82, 185–196.
- BERNET, D., SCHMIDT, H., MEIER, W., BURKHARDT-HOLM, P., WAHLI, T., 1999. Histopathology in Fish: Proposal for a Protocol to Assess Aquatic Pollution. J. Fish Dis. 22, 1, 25-35.
- BHAVAN, P.S., GERALDINE, P., 2000. Histopathology of the Hepatopaneas and Gills of the Prawn *Macrobrachium malcolmosonii* Exposed to Endosulfan, Aquat. Toxicol. 50, 4, 331-339.

- BLANCO, O., MEADE, T. 1980. Effect of Dietary Ascorbic Acid on the Susceptibility of Steelhead Trout (*Salmo gairdneri*) to Nitrite Toxicity. Rev. Biol. Trop. 28(1),107.
- BOXASPEN, K. and HOLM, J. C. 2001. The Development of Pyrethrum-Based Treatments Against the Ectoparasitic Salmon Lice *Lepeophtheirus salmonis* in Sea Cage Rearing of Atlantic salmon *Salmo salar* L. Aquac. Res. 32, 701–707.
- BOON, J.P., LEWIS, W.E., TJOEN-A-CHOY, M.R., .2002. Levels of Polybrominated Diphenyl Ether (PBDE) Flame Retardants in Animals Representing Different Trophic Levels of the North Sea Food Web, Environ. Sci. Technol. 36 (19), 4025-4032.
- BRADBURY, S.P. ve COATS, J.R., 1989. Comparative Toxicology of Phyrethroid Insecticides. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 108, 133–177.
- BRETAUD, S., SAGLIO, P., SALIGAUT, C., AUPERÏN, B. 2002 Biochemical and behavioral effects of carbofuran in goldfish (*Carassius auratus*) Environ. Toxicol. Chem. 21 (1), 175-181.
- BURRIDGE, L. E., HAYA, K., PAGE, F. H., WADDY, S. L., ZITKO, V., WADE, J. 2000. The Lethality of the Cypermethrin Formulation Excis to Larval and Post-Larval Stages of the American Lobster (*Homarus americanus*). Aquaculture.182,37-47.
- CARR, A., FREI, B. 1999. Does Vitamin C Act as a Pro-Oxidant Under Physiological Conditions. Fabas J. 13,1007–1024.
- CENGİZ, E.I., UNLU, E., BALCI, K., 2001. The Histopathological Effects of Thiodan® on the Liver and Gut of Mosquitofish, *Gambusia affinis*, J. Environ. Sci. Heal. B. 36, 1, 75-85.
- CENGIZ, E.I., UNLU, E., 2006. Sub-lethal Effects of Commercial Deltamethrin on the Structure of the Gill, Liver and Gut Tissues of Mosquitofish, *Gambusia affinis*: Amicroscopic Study. Environ.Toxicol. Pharm. 21 (3), 246–253.
- CENGIZ, E.I. 2006. Gill and Kidney Histopathology in the Freshwater Fish *Cyprinus carpio* After Acute Exposure to Delamethrin. Environ. Toxicol. Pharm., 22 (2), 200–204.
- CUESTA, A., ESTEBAN, M.A., MESEGUER, J. 2002. Natural Cytotoxic Activity in seabream (*Sparus aurata* L.) and its Modulation by Vitamin C. Fish Shellfish Immun. 13 (2), 97-109.

- DABROWSKI, K. 1990. Ascorbic Acid Status in the Early life of Whitefish (*Coregonus lavaretus* L.). Aquaculture 84, 61–70.
- DANSETTE, P., 1991. Reactive Intermediates and Formation of Anti-Organelle Antibodies: European Research Conference on ‘Mechanisms in Toxicity’, 9-13 Nov., France.
- DAS, B.K., MUKHERJEE, S.C. 2000. A Histopathological Study of Carp (*Labeo rohita*) Exposed to Hexachlorocyclohexane. Vet. Arhiv. 70 (4),169–180.
- DAS, B.K. and MUKHERJEE, S.C., 2003. Toxicity of Cypermethrin in *Labeo rohita* Fingerlings: Biochemical, Enzymatic and Haematological Consequences. Comp. Biochem. Physiol. C 134, pp. 109–121.
- DATTA, M. ve KAVIRAJ, A., 2003 Ascorbic acid supplementation of diet for reduction of deltamethrin induced stress in freshwater catfish *Clarias gariepinus*, Chemosphere, 53(8), 883-8.
- DAVID, M., MUSHIGERI, S. B., SHIVAKUMAR, R., PHILIPH, G. H., 2004. Response of *Cyprinus carpio* (Linn) to Sublethal Concentration of Cypermethrin: Alterations in Protein Metabolic Profiles. Chemosphere. 576,347-352.
- DAVID, B.V., SOMASUNDRAM, L., 1985. Synthetic Pyrethroits an Evaluation of Their Potential Effect on Non Target Organisms. Pesticides. 19,9-12.
- DHANAPAKIAM, P., PREMLATHA, J., 1994. Histopathological Changes in the Kidney of *Cyprinus carpio* Exposed to Malathion and Sevin. J. Environ. Biol. 15 (4), 283-287.
- DHAVALE, D. M., MASUREKAR, V. B., 1986. Variations in the Glucose and Glycogen Content in the Tissues of *Scylla serrata* (Forsk.) under the Influence of Cadmium Toxicity. Geobios. 13, 139–142.
- DÖKMECİ, İ., 1988. Toksikoloji. Akut Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi. Nobel Tıp Kitapevi. İstanbul.
- DUTTA, H.M., ADHIKARI, S., SINGH, N.K., ROY, P.K., MUNSHI, S.D., 1993. Histopathological Changes Induced by Malathion in the Liver of Freshwater Catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 51, 895-900.
- DURVE, V.S., LOVELL, R.T., 1982. Vitamin C and Disease Resistance in Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*). Can. J. Fish Aquat. Sci. 39, 948– 951.
- EELLS, J.T., RASMUSSEN, J.L., BANDETTINI, P.A., PROPP, J.M., 1993. Differences in the Neuroexcitatory Actions of Pyrethroid Insecticides and Sodium Channel Specific

- Neurotoxins in Rat and Trout Brain Synaptosomes. Toxicol. Appl. Pharm. 123, 1, 107-119.
- ERKMEN, B., ÇALIŞKAN, M., YERLI, S.V., 2000. Histopathological Effects of Cyphenothrin on the Gills of *Lepistes reticulates*. Vet. Hum. Toxicol. 42, 1, 5-7
- EVANS, P., HALLIWELL, B., 2001. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. Br. J. Nutr. 85.S67–74.
- FISK, A.T., HOBSON, K.A., NORSTROM, R.J., 2001. Influence of Chemical and Biological Factors on Trophic Transfer of Persistent Organic Pollutants in the Northwater Polynya Marine Food Web. Environ. Sci. Technol. 35, 732–738.
- GAPASIN, R.S.J., BOMBEO, R., LAVENS,P., 1998. Enrichment of Live Food with Essential Fatty Acids and Vitamin C: Effects on Milkfish (*Chanos chanos*) Larval Performance. Aquaculture. 162 (3-4), 269-286.
- GARCIA-SANTOS, S., FONTAINHAS-FERNANDES, A., WILSON, J.M., 2006. Cadmium Tolerance in the Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Following Acute Exposure: Assessment of Some Ionoregulatory Parameters. Environ Toxicol. 21 (1), 33-46.
- GIESY JP, DUKE CS, BINGHAM RD, DICKSON, G.W., 1983. Changes in Phosphoadenylate Concentrations and Adenylate Energy-Charge as an Integrated Biochemical Measure of Stress in Invertebrates - the Effects of Cadmium on the Fresh-Water Clam Corbicula-Fluminea. Toxicol. Environ. Chem. 6 (4), 259-295.
- GILL, T.S., PANT, J.C., TEWARI, H., 1988. Branchial and Renal Pathology in the Fish Exposed Chronically to Methoxy Ethyl Mercuric Chloride. Bull. Environ. Contam. Tox. 41, 241-246.
- GILL, T.S., PANDE, J., TEWARI, H., 1990-a. Hepatopathotoxicity of Three Pesticides in a Freshwater Fish *Puntius conchoni* Ham. J. Environ. Sci. Health. A. 25, 6, 653-663.
- GILL, T.S., PANDE, J., TEWARI, H., 1990-b. Effects of Endosulfan on the Blood and Organ Chemistry of Freshwater Fish *Barbus conchoni* Hamilton. Ecotox. Environ. Safe. 21, 80-91.
- GIMENO, L., FERRANDO, M.D., SANCHEZ, S., ANDREU, E., 1994. Endosulfan Effects on Liver and Blood of Eel, *Anguilla anguilla*. Comp. Biochem. Phys. C. 108, 3, 343-348.
- GLUTH, G, HANKE, W., 1985. A Comparison of Physiological Changes in Carp, *Cyprinus carpio* Induced by Several Pollutants at Sublethal Concentrations. Ecotox. Environ.

- Safe.. 9,179-188.
- GREULICH, K., PFLUGMACHER, S., 2003. Differences in Susceptibility of Various Life Stages of Amphibians to Pesticide Exposure. Aquat. Toxicol.. 65 (3), 329-336.
- GUPTA, A. B., SRIVASTAVA, A. K., 1982. Effect of Ethyl on Acate on Carbohydrate Metabolism of Common Indian catfish. Ecotox. Environ. Safe.. 6, 166-170.
- GURR, E. 1972. Biological Staining Methods. Kent Printers. 143. Tonbridge.
- HALVER, J.E., ASHLEY, L.M., SMITH, R.R., 1969. Ascorbic Acid Requirements of Coho Salmon and Rainbow Trout. Trans. Am. Fish. Soc.. 98, 762-771.
- HANKE, W., GLUTH, G., BUBEL, H., AND MIILLER, R., 1983. Physiological Changes in Carp Induced by Pollution. Ecotox. Environ. Safe.. 7,229-241.
- HART, J.L., THACKER, J.R.M., BRAIDWOOD, J.C., FRASER, N.R., Mattews, J.E., 1997. Novel Cypermethrin Formulation for the Control of Sea Lice on Salmon (*Salmo salar*). Vet. Rec.. 140, 179-181.
- HAYA, K., WAIWOOD, B.A, BURRIDGE, L., VAN EEKAUTE, L., 1985. Live Energy Metabolism and Gill ATPase Activity of *Salmo salar* Juvenils after Exposure to Sublethal Levels of Phenols. Mar Pollut. Phys Rec. Adv.. 13, 521-535.
- HAYA, K., 1989. Toxicity of Pyrethroid Insecticides to Fish. Environ. Toxicol.. Chem. 8, 381-391.
- HAYES, K.C., POTTER, P.J., WOLFE, D.L., 1994. 4-Aminopyridine in Patients with Spinal Cord Injury. J. Neurotraum.. 11,433-46.
- HEATH, A.G., 1987. Water Pollution and Fish Physiology. CRC Press Inc.. Florida
- HEATH, A.G., 1995. Water Pollution and Fish Physiology. Second Edition. CRC Pres. Inc. 359. Florida.
- HILTON, J.W., CHO., C.Y., SLINGER, S.J., 1977. Evaluation of the Ascorbic Acid Status of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). J. Fish Res. Board. Can.. 34, 2207-2210.
- HINTON, D. E., LAUREN, D. J., 1990.. In S. M. Adams, Biological indicators of fish community stress, (pp. 51±66). Bethesda, MD: American Fisheries Society Special 120 Publication
- HUGHES, C.M., 1984. General Anatomy of the Gills. (Hoar, W,S,, Randall, D.J., editors) Fish. New Physiol. Academic. Press. 1-72. New York.
- ISHIBASHI, Y., IKEDA, S., MURATA, O., 1992. Nutritional-Requirements of the Japanese Parrot Fish .3. Optimal Supplementary Ascorbic-Acid Level in the Japanese Parrot Fish Diet Nippon. Suisan Gakkaishi. 58 (2), 267-270.

- JAGOE, C.H., 1996. Responses at the Tissue Level: Quatitative Methods in Histopathology Applied to Ecotoxicology. (M.C. Newman. C.H. Jagoe. Editors) Ecotoxicology, A Hierarchial Treatment, Lewis Publishers, CRC Pres. New York.
- JAYANTHA-RAO, K., AZHAR-BAIG, M. D., RAMAMURTHY, K., 1984. Effect of a Systemic Pesticide Phosphamidon on Some Aspects of Fresh Water Fish, *Tilapia mossambica*. Indian J. Environ. Health. 26 -60-64.
- KARAN, V., VITOROVIC, S., TUDUNDZIC, V., POLEKSIC, V., 1998. Functional Enzymes Activity and Gill Histology of Carp after Copper Sulfate Exposure and Recovery. Ecotox. Environ. Safe. 40 (1-2),49-55.
- KARLSON-NORRGEN, L., RUNN, P., HAUX, C., FORLIN, L., 1985. Cadmium-Induced Changes in Gill Morphology of Zebrafish, *Brachydanio rerio* (Hamilton-Buchanan), and Rainbow Trout, *Salmo gairdneri* (Richardson). J. Fish Biol. 27, 81-95.
- KIRK, R.S., LEWIS, J.W., 1993. An Evaluation of Pollutant Induced Changes in the Gills of Rainbow Trout Using Scanning Electron Microscopy. Environ. Technol. 14, 577-585.
- KUMAR, S., PANT, S.C., 1984. Organal Damage Caused by Aldicarb to a Freshwater Teleost *Barbus conchoni* Hamilton. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 33, 50-55.
- KUMAR, K., ANSARI, B.A., 1986. Malathion Toxicity: Effect on the Liver of the Fish *Brachydanio rerio* (Cyprinidae). Ecotox Environ Safe. 12(3),199-205.
- KUTSKY, R. J., 1973. In Hand Book of Vitamins and Hormones. Van Nostrand Reinhold. New York.
- LARSSON, A. L., 1973. Metabolic Effects of Epinephrine and Norepinephrine in the Eel *Anguilla anguilla*. Gen. Comp. Endocrinol. 20,155-158.
- LEE, K. J., DABROWSKI, K., 2003. Interaction between Vitamins C and E Affects their Tissue Concentrations, Growth, Lipid Oxidation, and Deficiency Symptoms in Yellow Perch (*Perca flavescens*). Br. J. Nutr. 89, 589-596.
- LIM, C., LOVELL, R.T., 1978. Pathology of the Vitamin C Deficiency Syndrome in Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*). J. Nutr. 108, 1137-1146.
- MANDAL, P.K., KULSHRESTHA, A.K., 1980. Histopathological Changes Induced by the Sub-lethal Sumithion in *Clarias batrachus* (Linn.). Indian J. Exp. Biol. 18, 547-552.
- MATSUMURA, F., 1987. Deltametrin Induced Changes in Synaptosomal Transport of 3H-Epinephrine in the Squid Optic Lobes. Comp. Biochem. Phys. C. 87, 1, 31-35.

- MERCHINE, G., LAVENS, P., DHERT, P., 1996. Dietary Ascorbic Acid Requirements During The Hatchery Production of Turbot Larvae. J.Fish Biol. 49 (4), 573-583.
- NAKANO, T., TOMLINSONI, N., 1967. Catecholamine and Carbohydrate Concentration in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) in Relation to Physical Disturbance. J. Fish. Res. Bd. Can. 24, 1707-1715.
- NARENDRA, N.S., SRIVASTAVA, A.K., 1981. Effects of Endosulfan on Fish Carbohydrate Metabolism. Ecotox. Environ. Safe. 5,412-417.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC), 1993. Nutrient Requirements of Fish. National Academy Press, Washington, DC, pp. 114.
- NOWAK, B., 1996. Relationship Between Endosulfan Residue Level and Ultrastructural Changes in the Liver of Catfish, *Tandanus tandanus*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 30, 2, 195-202.
- OMKAR, S., 1985, Changes in Acid and Alkaline Phosphatase Activity of a Freshwater Prawn, *Macrobrachium lamarrei* Exposed to Aldrin. Ind. Health. 23, 155-157.
- ORTIZ, J.B., DE CANALES, M.L.G., SARASQUETE, C., 2003. Histopathological Changes Induced by Lindane (gamma-HCH) in Various Organs of Fishes. Sci. Mar. 67 (1), 53-61.
- ÖZTÜRK, S., 1990. Tarım İlaçları. Hasad Yayınevi. İstanbul.
- PERRY, S.F., LAURENT, P., 1993. Environmental Effects on Fishgill Structure and Function. (Rankin, R.C., Jensen, F.B. Editors) Fish Ecophysiology, Chapman and Hall, 231-264, London.
- PLUMMER, D.T. 1971. Pratical Biochemistry. McGraww-Hill Book Comp.369. England.
- RANI, V.J.S., VENKATESHWARALU, P., TANICH, C., 1989. Changes in Carbohydrate Metabolism of *Clarias batrachus* (Linn) when Exposed to Organophosphorus Insecticide. J. Environ. Biol. 10 (2),197-204.
- RASHATWAR, S.S., ILYAS, I.C., 1984. Effect of Phosphomidon in a Freshwater Teleost Fish *Nemachelius denisonii* Day. Histopathological and Biochemical Studies. J. Environ. Biol. 5, 1-8.
- REDDY, A.T.V., AYYANNA, K., YELLAMMA, K., 1991. Cypermethrin Induced Modulations in Lipid Metabolism of Freshwater Teleost, *Tilapia mossambica*. Biochem Int. 23, 5, 963-967.
- REDDY, M.S., RAO, V.R., 1989. In Vivo Modification of Lipid Metabolism in Response to Phosphomidon, Methyl Parathion and Lindane Exposure in the Paneid Prawn,

- Metapenaeus monocerus*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 43, 603-610.
- REDDY, M.P., BASHAMOHIDEEN, M.D., 1988. Toxic Impact of Fenvalerate on the Protein Metabolism in the Branchial Tissue of a Fish, *Cyprinus carpio*. Curr. Sci. 57, 211-212.
- REDDY, M. P, PHILIP, G.H., 1991. Hepato Toxicity of Malathion on the Protein Metabolism in *Cyprinus carpio*. Acta Hydrochim. Hydrobiol. 19, 1, 17-130.
- RICHMONDS, C., DUTTA, H.M., 1989. Histopathological Changes Induced by Malathion in the Gills of Bluegill *Lepomis macrochirus*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 43, 123-130.
- ROE, H.J., BATLEY, J.M., GRAY, R.R., ROBINSON, J.N., 1961. Complete Removal of Glycogen From Tissues by Extraction With Cold Trichloroacetic Acid Solution. J. Biol. Chem. 236, 1224-1246.
- ROHLF, J.F., SOKAL, R.R. 1969. Statistical Tables, W.H. Freeman and Company, San Francisco.
- ROY, R., GUHA, B., 1958. Species Differences in Regard to the Biosynthesis of Ascorbic Acid. Nature. 182, 319-320.
- SAHA, S., KAVIRAJ, A., 2003. Acute Toxicity of Synthetic Pyrethroid Cypermethrin to Freshwater Catfish *Heteropneustes fossilis* (Bloch). Int. J. Toxicol. 22,4, 325-328.
- SAHIB, I.K., RAO, K.R., RAO, K.V., 1984. Effect of Malathion on Protein Synthetic Potentiality of the Tissues of the Teleost, *Tilapia mossambica* (Peters), as Measured Through Incorporation of [¹⁴C] Amino Acids. Toxicol Lett. 20(1),63-7.
- SAKTHIVEL, V., GAIKWAD, S.S., 2001. Dimecron Induced Changes in the Gills of the Freshwater Teleost *Gambusia affinis* (BAIRD and GERARD) Leading to Alternations in Rate of Oxygen Consumption. Bio. Sci. Res. B. 17, 1, 37-42.
- SARKAR, B., CHATTERJEE, A., ADHIKARI, S., AYYAPPAN, S. 2005. Carbofuran- and Cypermethrin-Induced Histopathological Alterations in the Liver of *Labeo rohita* (Hamilton) and its Recovery. J. Appl. Ichthyol. 21, 131-135.
- SARUHAN, E., TORAL, O., 1980. Bir Tropik Balık Türü Olan *Tilapia Nilotica* (Lin.) 1758' in Çukurova Bölgesinde Geliştirme Sorunları üzerine Bir Tartışma Tübitak 7. Bilim Kongresi (9 Eylül-3 Ekim 1980, İstanbul).
- SASTRY, K.V., SIDDIQUI, A.A., 1983. Metabolic Changes in the Snakehead Fish *Channa punctatus* Chronically Exposed to Endosulfan. Water Air Soil Pollut. 19,133-141.

- SINHA SENI, P., TESPRATEEP, T., 1987. Histopathological Effects of Paraquat and Gill Function of *Puntius gonionatus*, Bleeker. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 38, 308-312.
- SOKAL, R.R., ROHLF, J.F. 1969. Biometry. W.H. Freeman and Company, San Francisco.
- TEH, S.J., ADAM, S.M., HINTON, D.E., 1997. Histopathological Biomarkers in Feral Freshwater Fish Populations Exposed to Different Types of Contaminant Stress. Aquat. Toxicol. 37, 51-70.
- TEMMINK, J., BOWMEISTER, P., DE JONG, P., VAN DEN BERG, J., 1983. An Ultrastructural Study of Chromate Induced Hyperplasia in the Gill of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). Aquat. Toxicol. 4, 165-179.
- THOPHON, S. KRUATRATRACHUE, M., UPATHAM, E.S., POKETHITIYOOK, P., SAHAPHONG, S., JARITKHUAN, S., 2003. Histopathological Alterations of White Seabass, Lates Calcarifer, in Acute and Subchronic Cadmium Exposure. Environ. Pollut. 121, 307-320.
- TILAK, K.S., VEERAI AH, K., YACOB U, K., 2001. Studies on Histopathological Changes in the Gill, Liver and Kidney of *Ctenopharyngodon idellus* (Valenciennes) Exposed to Technical Fenvalerate and EC 20%. Poll. Res. 20 (3), 387-393.
- TIMBRELL, A.J., 1991. Toxic Responses to Foreign Compounds. In Principles of Biochemical Toxicology. Second Edition, Taylor and Francis. London.
- TIMBRELL, A.J., 1995. Disposition of Toxic Compounds. In Introduction to Toxicology. Second Edition, Taylor and Francis. London.
- URL 1: <http://aquaticpath.umd.edu/appliedtox/m5-pesticides.swf>
- URL 2: <http://www.bugspray.com/catalog/products/page279.html>
- URL 3: <http://ace.orst.edu/cgi-bin/mfs/01/pips/cypermeth.html>
- URL 4: <http://www.fishbase.org/Summary/speciesSummary.php?ID=2&genusname=Oreochromis&speciesname=niloticus+niloticus>
- VELISEK, J., WLASOW, T., GOMULKA, P., SVOBODOVA, Z., DOBSIKOVA, R., NOVATNY, L. DUDZIK., M., 2006. Effects of Cypermethrin on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Vet. Med. 51 (10): 469-476.
- VELMURUGAN, B., SELVANAYAGAM, M., CENGIZ, E.I., UNLU, E., 2007. The Effects of Fenvalerate on Different Tissues of Freshwater Fish *Cirrhinus mrigala*. J. Environ. Sci. Health.. B. 42, 2, 157-163.
- VENKATRAMESHVEN, M., AGNIHOTHRUDU, V., 1988. Persistence of Captafol in Soils

- with and without Amendments and its Effects on Soil Microflora. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 41(4), 548-555.
- VERLHAC, V., OBACH, A., GABAUDAN, J, SCHUEP, W., HOLE, R., 1998. Immunomodulation by Dietary Vitamin C and Glucan in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Shellfish Immun. 8 (6): 409-424.
- VIJAYAVEL, K., RAM, E.F., ANBUSELVAMA, C., BALASUBRAMANIAN, M.P., 2006. Interactive Effect of Monocrotophos and Ammonium Chloride on the Freshwater Fish *Oreochromis mossambicus* with Reference to Lactate/Pyruvate Ratio. Pestic. Biochem. Physiol. 86 (3): 157-161.
- WALTER, G.L., JANES, P.D., GLESY, J.P., 2000. Pathologic Alterations in Adult Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, Exposed to Dietary 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-Dioxin. Aquat. Toxicol. 50, 4, 287-299.
- WESTER, P.W., CANTON, J.H., 1986. Histopathological Study of *Oryzias latipes* (Medaka) After Long-Term α -Hexachlorocyclohexane Exposure. Aquat. Toxicol. 9, 21-45.
- WHO, World Health Organisation 1992. Alpha-cypermethrin. Environmental Health Criteria. World Health Organisation, Geneva.
- WILSON, R.P., 1973. Absence of Ascorbic Acid Synthesis in Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) and Blue Catfish (*Ictalurus furcatus*). Comp. Biochem. Physiol. B 46, 635-638.
- WILSON, R. P. ve POE, W. E. 1973. Impaired Collagen Formation in the Scorbutic Channel Catfish. J. Nutr. 103, 1359-1364.
- WOOD, C.M., 1991. Branchial in and Acid-Base Transfer in Freshwater Teolest Fish: Environmental Hyperoxia as a Prope. Phsiol zool. 64,68-102.
- YILMAZ, M., GÜL, A. ERBAŞLI, K., 2004. Acute Toxicity of Alpha-Cypermethrin to Guppy (*Poecilia reticulata*, Pallas, 1859) Chemosphere. 56 (4), 381-385.
- YONKOS, L.T., FISHER, D.J., WRIGHT, D.A., KANE, A.S., 2000. Pathology of Fathead Minnows (*Pimephales promelas*) Exposed to Chlorine Dioxide and Chloride. Mar. Environ. Res. 50, 1, 5, 267-271.

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.Protein derişimi ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki

Şekil 2.*Tilapia nilotica*'da (A) 10, (B) 20, (C) 7 günlük iyileştirme süreci ve (D) 15 günlük iyileştirme süreci sonunda grupların doku protein düzeyi üzerine etkileri

Şekil 3.Glikojen derişimi ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki

Şekil 4.*Tilapia nilotica*'da (A) 10, (B) 20, (C) 7 günlük iyileştirme süreci ve (D) 15 günlük iyileştirme süreci sonunda grupların doku glikojen düzeyi üzerine etkileri

TABLolar LİSTESİ

- Tablo 1.** Laboratuvar şartlarında kurulan akvaryumdaki suyun kimyasal özellikleri
- Tablo 2.** Deney sırasında ölen balıklar
- Tablo 3.** Kullanılan balık yeminin içeriği
- Tablo 4.** Protein standardı hazırlanması
- Tablo 5.** Glikojen standardı hazırlanması
- Tablo 6.** Solungaçlarda saptanan lezyonların kalitatif değerlendirmesi
- Tablo 7.** Karaciğerde saptanan lezyonların kalitatif değerlendirilmesi
- Tablo 8.** Böbrek dokusundaki lezyonların kalitatif değerlendirilmesi
- Tablo 9.** *Tilapia nilotica*'da karaciğer dokusu protein düzeyi (mg/g y.a.) üzerine gruplar ve sürenin etkisi
- Tablo 10.** *Tilapia nilotica*'da kas dokusu protein düzeyi (mg/g y.a.) üzerine gruplar ve sürenin etkisi
- Tablo 11.** *Tilapia nilotica*'da solungaç dokusu protein düzeyi (mg/g y.a.) üzerine gruplar ve sürenin etkisi
- Tablo 10.** *Tilapia nilotica*'da karaciğer dokusu glikojen düzeyi (mg/g y.a.) üzerine gruplar ve sürenin etkisi
- Tablo 11.** *Tilapia nilotica*'da kas glikojeni protein düzeyi (mg/g y.a.) üzerine gruplar ve sürenin etkisi

RESİM LİSTESİ

- Resim 1.** I. grup (kontrol) 20. gün, solungaç
Resim 2 II. grup (asetonlu kontrol) 20. gün, solungaç
Resim 3 III. grup 10. gün, solungaç
Resim 4 IV. grup, 10. gün, solungaç
Resim 5 V. grup,10. gün, solungaç
Resim 6 VI. grup, 10. gün solungaç
Resim 7 III. grup 20. gün solungaç
Resim 8 IV. grup 20. gün solungaç
Resim 9 V. grup 20. gün, solungaç
Resim 10 VI. grup 20. gün, solungaç
Resim 11 III. grup iyileştirme, solungaç
Resim 12 IV. grup iyileştirme, solungaç
Resim 13 V. grup iyileştirme, solungaç
Resim 14 VI. grup iyileştirme, solungaç
Resim 15 1. grup (kontrol) 20. gün, karaciğer
Resim 16 II. grup (asetonlu kontrol) 20. gün, karaciğer
Resim 17 III. grup 10. gün, karaciğer
Resim 18 IV. grup 10. gün, karaciğer
Resim 19 V. grup 10. gün, karaciğer
Resim 20 VI. grup 10. gün, karaciğer
Resim 21 III. grup 20. gün, karaciğer
Resim 22 VI. grup 20. gün, karaciğer
Resim 23 V. grup 20. gün, karaciğer
Resim 24 VI. grup 20. gün, karaciğer
Resim 25 III. grup iyileştirme, karaciğer
Resim 26 IV. grup iyileştirme, karaciğer
Resim 27 V. grup iyileştirme, karaciğer
Resim 28 VI. grup iyileştirme, karaciğer
Resim 29 I. grup (kontrol) 20. gün, böbrek
Resim 30 II. grup 20. gün, böbrek
Resim 31 III. grup 10. gün böbrek
Resim 32 IV. grup 10. gün böbrek
Resim 33 V. grup 10.gün böbrek
Resim 34 VI. grup 10. gün böbrek
Resim 35 III. grup 20. gün, böbrek
Resim 36 IV. grup 20. gün, böbrek
Resim 37 V. grup 20. gün, böbrek
Resim 38 VI. grup 20. gün, böbrek
Resim 39 III. grup iyileştirme 15. gün, böbrek
Resim 40 IV. grup iyileştirme 15. gün, böbrek
Resim 41 V. grup iyileştirme 15. gün, böbrek
Resim 42. VI grup iyileştirme 15. gün, böbrek

ÖZGEÇMİŞ



Adı Soyadı: Neslihan KORKMAZ

Doğum yılı: 28.05.1981

Doğum yeri: Hatay

E-mail: neslihank@dicle.edu.tr

1988-1996 Hatay Dörtyol ilçesi Kuzuculu İlköğretim Okulunda ilk ve ortaokulu tamamladım.

1996-1999 Kuzuculu Kazım Karabekir (Y.D.A.) Lisesi'nde eğitimimi tamamladım.

2000-2005 Dicle Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümünü bitirdim.

2005 yılında Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümünde Yüksek Lisans eğitimine başladım.