

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**METİL PARATİON'UN İNCİ KEFALİ (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811)
ÜZERİNDEKİ AKUT VE KRONİK TOKSİK ETKİLERİNİN
BELİRLENMESİ**

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN: Ertuğrul KANKAYA
DANIŞMAN: Prof. Dr. Güler ÜNAL

VAN-2008

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**METİL PARATİON'UN İNCİ KEFALİ (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811)
ÜZERİNDEKİ AKUT VE KRONİK TOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN: Ertuğrul KANKAYA

VAN-2008

KABUL ve ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Güler ÜNAL danışmanlığında Ertuğrul KANKAYA tarafından hazırlanan “Metil Paration’un İnci Kefali (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811) Üzerindeki Akut ve Kronik Toksik Etkilerinin Belirlenmesi” isimli bu çalışma 18/07/2008 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı’nda Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Hatice PARLAK

İmza:

Üye: Prof. Dr. Güler ÜNAL

İmza:

Üye: Prof. Dr. Osman ÇETİNKAYA

İmza:

Üye: Doç. Dr. İsmail ÇELİK

İmza:

Üye: Doç. Dr. Vedat TÜRKOĞLU

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun 29/07/2008 tarih ve 2008./15... sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Doç. Dr. Nahit AKTAS
Enstitü Müdürü

Enstitü Müdürü

ÖZET

METİL PARATION'UN İNCİ KEFALİ (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811) ÜZERİNDEKİ AKUT VE KRONİK TOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

KANKAYA, Ertuğrul

Doktora Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Güler ÜNAL

Temmuz 2008, 124sayfa

Bu çalışmada Van Gölü Havzasında en fazla kullanılan pestisitlerden olan metil paration (MP)'un havza için endemik ve ekonomik öneme sahip olan inci kefali (*Chalcalburnus tarichi*)'nde akut ve kronik toksik etkileri araştırıldı. Akut denemede, 6.45-15.00 mg/L arasında 9 farklı MP konsantrasyonu uygulandı. MP'nin bütün konsantrasyonlarında balıklarda davranış bozuklukları gözlemlendi. İlk tepki 15.00 mg/L konsantrasyonda uygulamadan 2 saat 10 dakika sonra, ilk ölüm 13.50 mg/L konsantrasyonda uygulamadan 3 saat 45 dakika sonra gözlemlendi. Letal konsantrasyon 7.97 mg/L, 96 saat LC₅₀ değeri 11.44 mg/L, 96 saat EC₅₀ değeri 6.89 mg/L ve LT₅₀ değeri 28.14-289.29 saat arasında belirlendi.

Kronik denemede hemoglobin ve hematokrit değerlerinin 2.10, 4.28 ve 6.11 mg/L konsantrasyonlarda azaldığı (P<0.05), eritrosit sayısı, ortalama eritrosit hacmi ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı değerlerinin değişmediği belirlendi. MP'nin kan hemoglobin ve hematokrit değerleri esas alınarak LOEC 2.10 mg/L, NOEC 1.47 mg/L, MATC 1.76 mg/L, ACR 6.50 mg/L olarak belirlendi.

MP'nin 4.28 mg/L konsantrasyonunda karaciğer hücrelerinde yağ birikimi, damarlarda genişleme ve genellikle damar etrafında lokal nekroz, sarı damlalar ve eozinofilik hücre gruplarının varlığı gözlemlendi. Solungaç yapılarında primer lamella epitelinde kalınlaşma ve sekonder lamellerin uç kısmında kıvrılma

ve epitel tabakada kopmalar belirlendi. Ovaryumlarda herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmazken testislerde kanlanmalar, özellikle mitotik safhadaki üreme hücrelerinde bozulmalar, folikül lumeninde genişleme gözlenirken mitotik safhaya girmeyen testiste intersititijal dokuda eozinofilik hücre gruplarının varlığı gözlemlendi.

Karaciğer ve kas dokusunda asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesinin değişmediği bununla birlikte beyin dokusunda azaldığı ($P<0.05$), butirikolinesteraz (BChE) aktivitesinin ölçülen dokularda değişmediği belirlendi.

Sonuç olarak MP inci kefali için bazı morfolojik, histolojik, hematolojik ve biyokimyasal kriterlere göre akut ve kronik toksik bir maddedir. Türün yaşadığı tatlısu ortamlarında MP konsantrasyonu 0.1144 mg/L'yi geçmemeli, MP tarımda kontrollü olarak kullanılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: İnci Kefali, *Chalcalburnus tarichi*, Metil paration, Akut toksisite, Kronik toksisite, Hematoloji, Histopatoloji, AChE, BChE, Ekotoksikoloji, LC_{50}

ABSTRACT

DETERMINATION OF ACUTE AND CHRONIC TOXIC EFFECTS OF METHYL PARATHION ON INCI KEFALI (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811)

KANKAYA, Ertuğrul

Ph.D. Thesis, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Güler ÜNAL

July 2008, 124 pages

In this study, acute and chronic toxic effects of methyl parathion (MP), one of the most common used pesticides in Lake Van Basin, on *Chalcalburnus tarichi* having economic importance endemic and in the basin were studied. In the acute experiment, 9 different MP concentrations (6.45-15.00 mg/L) were applied. Behavior disorders in fish were observed in all MP concentrations. First response was observed in 130 minutes after the application of 15.00 mg/L, and first mortality was observed in 225 minutes after the application of 13.50 mg/L. It was determined that the lethal concentration was 7.97 mg/L; 96 hours LC₅₀ value was 11.44 mg/L; 96 hours EC₅₀ value was 6.89 mg/L; LT₅₀ value was between 28.14 to 289.29 hours.

In the chronic experiment, it was determined that hemoglobin and hematocrite values significantly ($P<0.05$) decreased at 2.10, 4.28, and 6.11 mg/L concentrations of MP, while erythrocyte number, mean erythrocyte volume, and mean hemoglobin amount per erythrocyte were not changed. In fish blood MP applied, LOEC, NOEC, MATC, and ACR values of hemoglobin and hematocrit were found 2.10 mg/L, 1.47 mg/L, 1.76 mg/L, and 6.50 mg/L, respectively.

In 4.28 mg/L concentration of MP, fat accumulation, vessel expansion, local necrosis around the vessels, yellow droplets, and existence of eosinophilic

cells groups in liver cells were observed. In gill structures, primer lamella epithelium was widened, seconder lamella's tips was curled, and epithelium layer was broken by MP applications. Although there was no histopathological symptoms in ovariums, there was hemorrhagies in testis, especially disorders in reproduction cells in mitotic stage, there was wideness in folicule lumen, and there was an existence of eosinophilic cell groups in intersitital tissue in non-mitotic testis by comparing the controls.

It was also determined that there was no difference in acetylcholinesterase (AChE) activity in liver and muscle tissues, but it significantly ($P < 0.05$) decreased in brain tissue. However, butyrylcholinesterase BChE activity did not change any of the mentioned tissues.

In conclusion, MP is a acute and chronic toxic material for *Chalcalburnus tarichi* based on the results of this researchs on some morphological, histological, hematological, and biochemical parameters. In the freshwater environments living this species, MP concentration should not exceed 0.1144 mg/L and MP should be used in controlled in agriculture.

Key Words: *Chalcalburnus tarichi*, Methyl parathion, Acute toxicity, Chronic toxicity, Hematology, Histopathology, AChE, BChE, Ecotoxicity

ÖN SÖZ

İnsan-doğa dengesinin bozulmasına yol açan bir hızlilikle büyüyen çevre kirliliğinin temel nedeni, hızla gelişen sanayileşme ve çevre faktörünün göz ardı edilmesi olmuştur. Ayrıca, hızla artan dünya nüfusunun beslenme ihtiyacını karşılamak için geleneksel tarım yöntemlerinin terk edilerek tarımda yeni teknolojilerin yoğunlaşması da doğal çevrede ciddi hasarlar oluşturmuştur. Birçok sebepten dolayı daralan tarım alanlarından daha fazla ürün elde etme isteği tarımsal ürünleri zararlıların etkisinden korumak amacıyla pestisit olarak ifade edilen çok çeşitli kimyasal bileşiklerin kullanılmasına yol açmıştır. Fakat verimin arttırılmasında büyük rol oynayan bu pestisitlerin bilinçsizce ve tekniğine uygun olmayan kullanımları sonucunda, insan, hayvan ve çevre sağlığı tehdit edilmiş, hava, su, toprak ve yabancı hayat olumsuz etkilenmiş, gıda maddelerinde ilaç kalıntıları söz konusu olmuştur.

İnsan ve hayvan beslenmesinde önemli bir yer tutan gıdalardan biri olan su ürünleri ile avcılığı ve üretimi yapılan su kaynakları da pestisit kirliliğinin tehdidi altındadır. Tarımda kullanılan ilaçlar birçok yollarla en sonunda su kaynağına ulaşmakta, orada birikmekte ve sucul ekosistemlerde yaşayan canlıların ölümüne, gelişme ve üremelerinin gerilemesine ve hatta nesillerin ortadan kalkmasına neden olmaktadır. Pestisitler canlıları öldürmese bile vücutlarında birikmekte, besin zinciri ile insana kadar tüm canlıların sağlığını tehdit etmektedir. Pestisitler tarımsal ürün zararlılarına karşı yaygın ve etkin olarak 1950'li yıllardan beri kullanılmaktadır. Bütün pestisitler karada ve suda yaşayan her türlü canlıya değişen düzeylerde toksik etkilere sahiptir.

İnci kefalı (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811) Van Gölü çevresinde ve taze halde ulaştırılabildiği yakın bölgelerde severek tüketilen önemli bir balık türüdür. Bu çalışma; su ekosistemlerine tarımsal ürün zararlılarına karşı kullanımla giren, Van Gölü havzasında yaygın olarak kullanılan, sentetik organik

insektisitler grubundan organik fosforlu bileşiklerden metil parationun inci kefalı üzerindeki akut ve kronik toksik etkilerini belirleyebilmek amacıyla yapılmıştır.

Araştırma ve çalışmalarım boyunca yardımını esirgemeyen tez danışmanım sayın hocam Prof. Dr. Güler ÜNAL'a, Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölüm Başkanı sayın hocam Prof. Dr. Osman ÇETİNKAYA'ya, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nden sayın hocam Prof. Dr. Hatice PARLAK'a, deneme materyali balıkların avlanması, deneme ortamına alıştırılması, bakım ve besleme işlemlerinde, deneme ortamının hazırlanması, denemeler esnasında, literatür sağlama ve yazım aşamalarında yardımlarını gördüğüm, YYÜ Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü'nden Yrd. Doç. Dr. Fazıl ŞEN, Yrd. Doç. Dr. Mahmut ELP, Arş. Gör. Mehmet KOCABAŞ, Yrd. Doç. Dr. Şenol GÜZEL'e, YYÜ Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden Doç. Dr. İsmail ÇELİK, Doç. Dr. Peyami BATTAL, Arş. Gör. Dr. Ahmet R. Oğuz, Arş. Gör. Burak KAPTANER, Arş. Gör. M. Emre EREZ, Arş. Gör. S. Mesut PINAR ve diğer bölüm elemanlarına, YYÜ Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nden Doç. Dr. Vedat TÜRKOĞLU'na, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü'nden Doç. Dr. Muhammed ATAMANALP'e, YYÜ Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden Yrd. Doç. Dr. Yusuf TUNÇTÜRK, Arş. Gör. Gökhan BORAN'a, İktisadi İdari Bilimler Fakültesi'nden Öğr. Gör. Mesut GÜL'e, YYÜ Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü'nden Arş. Gör. Ecevit EYDURAN'a, YYÜ Eğitim Fakültesi'nden Yrd. Doç. Dr. Hasan GENÇ, Yrd. Doç. Dr. İsrail TOZLU'ya, YYÜ Veteriner Fakültesi'nden Prof. Dr. Fahri BAYIROĞLU, Arş. Gör. Bahat COMBA, Doç. Dr. İdris TÜREL'e, YYÜ Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nden Doç. Dr. Suat ŞENSOY'a, YYÜ Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü Uygulama ve Araştırma Tesisi çalışanı Seyfettin DAYAN'a, metil parationu ve madde ile ilgili teknik bilgileri sağlayan Koruma Klor-Alkali Sanayi ve Ticaret AŞ'ye ve Kalite Kontrol Müdürü Zülal Türkmen'e, metil parationun sudaki aktüel konsantrasyonun ölçümlerinde yardımcı olan Van İl Kontrol Laboratuvar Müdürü M. Sıddık ARVAS'a, teknik personeline ve emeği geçip de burada ismini yazamadığım tüm dost ve arkadaşlara, tüm öğrenim kademelerinde

maddi manevi yardımlarını gördüğüm aileme, eşime, çocuklarıma ve sevdiklerime teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Bu çalışmayı 2007-FBE-D75 numaralı proje ile destekleyen Yüzüncü Yıl Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na ve tüm çalışanlarına teşekkür ederim.

Ertuğrul KANKAYA

Van, 2008

İÇİNDEKİLER

	sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖN SÖZ	v
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ	7
2.1. İnci Kefali Üzerinde Yapılmış Çalışmalar	7
2.2. Metil Paration Toksikitesi Üzerinde Yapılan Çalışmalar	13
2.3. Organik Fosforlu Pestisitlere Maruz Bırakılan Akuatik Organizmalar ve Bunlardan Alınan Kan ve Doku Örnekleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar	20
2.4. Testlerde Kullanılan Terimler ve Parametreler	30
3. MATERYAL ve YÖNTEM	33
3.1. Materyal	33
3.1.1. İnci kefali (deneme materyali balık)	33
3.1.2. Deneme ortamı	34
3.1.3. Denemelerde kullanılan kimyasallar	36
3.2. Yöntem	38
3.2.1. Akut deneme	39
3.2.1.1. Akut toksisite denemesi için konsantrasyon belirleme (tarama) testi	39
3.2.1.2. Akut toksisite denemesi	39
3.2.2. Kronik toksisite denemesi	40
3.2.2.1. Kronik denemenin sona erdirilmesi kan ve diğer dokuların alınması	41

3.2.3. Hematolojik analizler ve hesaplamalar	42
3.2.3.1. Hemoglobin miktarının tayini	42
3.2.3.2. Hematokrit tayini	43
3.2.3.3. Eritrosit sayısının tespiti	43
3.2.3.4. Kan yayma preparatlarının hazırlanması ve boyanması	43
3.2.3.5. Ortalama eritrosit hacmi hesaplaması	44
3.2.3.6. Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı hesaplaması	44
3.2.3.7. Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu hesaplaması	44
3.2.4. Histopatoloji	44
3.2.5. Asetilkolinesteraz ve Butirilkolinesteraz aktivite analizi	45
3.2.6. İstatistiksel analizler	47
4. BULGULAR	49
4.1. Akut Deneme	49
4.1.1. Akut deneme sırasında balıkların etkilenmesi ve ölümleri	50
4.1.2. Uygulanan konsantrasyonlarda yapılan gözlemler	53
4.1.3. Akut toksisite denemesinde belirlenen LC ₅₀ , EC ₅₀ ve LT ₅₀ değerleri	57
4.2. Kronik Deneme	61
4.2.1. Kronik toksisite denemesinde yapılan gözlemler	62
4.2.2. Hematoloji	63
4.2.3. Kronik toksisite denemesinde belirlenen LOEC, NOEC, MATC ve ACR değerleri	66
4.2.4. Metil parationun karaciğer, solungaç, ovaryum ve testis dokuları üzerine etkileri	69
4.2.5. Asetilkolinesteraz ve Butirilkolinesteraz Aktivitesi	89
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	90
KAYNAKLAR	103
ÖZ GEÇMİŞ	124

ŞEKİLLER DİZİNİ

	sayfa
Şekil 3.1. Denemelerde kullanılan inci kefali (<i>Chalcalburnus tarichi</i> Pallas, 1811)	34
Şekil 3.2. Denemede kullanılan balıkların doğal ortamdan yakalanması	35
Şekil 3.3. Denemelerin yapıldığı ortamdan bir görünüş	36
Şekil 3.4. Metil parationun molekül yapısı (Anonim, 2007'den)	37
Şekil 4.1. İnci kefalinde metil paration akut toksisite testinde konsantrasyon- tepki grafiği ve probit analiziyle bulunan 96 saat LC ₅₀ değeri.	58
Şekil 4.2. İnci kefalinde metil paration akut toksisite testinde konsantrasyon- tepki grafiği ve probit analiziyle bulunan 96 saat EC ₅₀ değeri.	59
Şekil 4.3. İnci kefalinde akut toksisite testinde metil paration konsantrasyonlarına karşılık gelen LT ₅₀ değerleri.	61
Şekil 4.4. Kronik metil paration konsantrasyonları ve inci kefalinde kan hemoglobin değerleri esas alınarak belirlenen LOEC ve NOEC değerleri.	66
Şekil 4.5. Kronik metil paration konsantrasyonlarına göre inci kefalinde kan hematokrit değerleri esas alınarak belirlenen LOEC ve NOEC değerleri.	67
Şekil 4.6. İnci kefalinde eritrositlerin görüntüsü. a) kontrol grubu, b) 4.28 mg/L metil paration uygulama grubu. (Giemsa)	68
Şekil 4.7. İnci kefalinde, a) kontrol ve b) DMSO kontrol balıkların karaciğer dokusundan alınan kesit görüntüleri. (a ve b: H-E)	70
Şekil 4.8. a ve b metil parationun 4.28 mg/L konsantrasyonuna maruz bırakılan inci kefali karaciğer dokusundan alınan kesitlerde karaciğer hücrelerinde gözlenen yağ damlaları (→). (a: H-E ve b: M-T)	71

- Şekil 4.9. Metil parationun 4.28 mg/L konsantrasyonuna maruz bırakılan inci kefalinden alınan karaciğer kesitlerinde gözlenen, a ve b) kan damarı etrafında gözlenen hipertrofi olmuş hücre grupları (→). (a: H-E; b: M-T) 72
- Şekil 4.10. Metil parationun 4.28 mg/L konsantrasyonuna maruz bırakılan inci kefalinden alınan karaciğer kesitlerinde gözlenen, a) lobül içerisinde gözlenen hipertrofi olmuş hücre grupları (→) ve b) eozinofilik hücre grubu (*). (a ve b: H-E) 73
- Şekil 4.11. Metil parationun 4.28 mg/L konsantrasyonuna maruz bırakılan inci kefali karaciğer dokusunda genişlemiş, a) sinuzoid (→) ve b) portal damar görüntüleri. (a: H-E; b: M-T) 74
- Şekil 4.12. Metil parationun 4.28 mg/L konsantrasyonuna maruz kalan inci kefali karaciğer dokusundan alınan kesitlerde görülen sarı renkli damlalar ve kistik yapılar. a) Hepatositler arasında dağınık olarak görülen sarı renkli yapıların genel görüntüsü (→); b) Hepatositler arasında görülen sarı renkli tek bir yapı (→); c) Hepatositler arasında görülen daha büyük sarı renkli bir yapı (→). (M-T) 75
- Şekil 4.13. Metil parationun 4.28 mg/L konsantrasyonuna maruz kalan inci kefali karaciğer dokusundan alınan kesitlerde, a) Hepatositler arasında görülen daha büyük sarı renkli bir yapı (→); b) Hepatositler arasında, genişlemiş kan damarına yakın alanda görülen ve kist içerisine alınmış sarı renkli bir yapı (→); c) sarı renkli kistik bir yapının büyük büyütme görüntüsü (→). (M-T) 76
- Şekil 4.14. İnci kefali karaciğerinden alınan kesitlerde hepatositlerde glikojen içeriğinin gösterilmesi. a) kontrol grubu balıkların karaciğerinden alınan kesitlerin ve b) Metil parationun 4.28 mg/L konsantrasyonuna maruz bırakılan balıkların karaciğer dokusundan alınan kesitlerin görüntüsü. (PAS) 77

- Şekil 4.15. İnci kefalinde a) kontrol ve b) DMSO kontrol grupların solungaç kesitleri. Pl: primer lamella; Sl: sekonder lamella; Kh: klorid hücre. (H-E) 79
- Şekil 4.16. Metil parationun 4.28 mg/L konsantrasyonuna maruz kalan inci kefalî solungaçlarından alınan kesitler. a) primer lamelleri (Pl) çevreleyen epitel dokuda kalınlaşma, sekonder lamelleri (Sl) uç kısımlarındaki kıvrılma ve tokmak şeklindeki yapılar (*) ve b) bazı primer lamellerde epitel dokunun sinuzoitlerden ayrılması (→). (H-E) 80
- Şekil 4.17. İnci kefalinde, a) kontrol ve b) DMSO kontrol gruplarının ovaryumlarından alınan kesitler. Ko: kortikal alveolar oosit; Po: perinuklear oosit; Sd: stromal doku. (H-E) 81
- Şekil 4.18. Metil parationun 4.28 mg/L konsantrasyonuna maruz bırakılan inci kefalî ovaryumlarından alınan kesitler, a ve b. Ko: kortikal alveolar oosit; Po: perinuklear oosit; Sd: stromal doku. (H-E) 82
- Şekil 4.19. İnci kefalinde kontrol grubunda testislerden alınan kesitler. a) olgunlaşmamış safhadaki testis, primordial germ hücreler (→) ve b) olgunlaşma safhasındaki testis görüntüsü, mitotik hücre grupları (*). (H-E) 84
- Şekil 4.20. İnci kefalinde DMSO kontrol grubunda testislerden alınan kesitler. a) olgunlaşmamış safhadaki testis, primordial germ hücreler (→) ve b) olgunlaşma safhasındaki testis görüntüsü, mitotik hücre grupları (*). (H-E) 85
- Şekil 4.21. İnci kefalinde 4.28 mg/L metil paration uygulanan, a ve b) testiste seminifer folikül lumeninde ve dokuda görülen bozulmalar (→), eozinofilik yapı (*), doku bozulması (db). (H-E) 86
- Şekil 4.22. İnci kefalinde 4.28 mg/L metil paration uygulanan, a ve b) seminifer folikül lumeninin genişlemesi ve birleşmiş seminifer foliküller (→), intersititiyal dokuda kanlanma (*). (H-E) 87

Şekil 4.23. İnci kefalinde 4.28 mg/L metil paration uygulanan, a) testiste görülen eozinofilik hücre grupları (e), b) kist içerisine alınmış eozinofilik bir hücre grubu (eg). (H-E)

88

ÇİZELGELER DİZİNİ

	sayfa
Çizelge 2.1. 12 balık türünün metil parationa 96 saat LC ₅₀ değeri ve nispi hassasiyetleri (Macek ve McAllister, 1970)	14
Çizelge 4.1. İnci kefalinde metil paration akut toksisite denemesi boyunca belirlenen su kalitesi parametreleri değerleri.	50
Çizelge 4.2. İnci kefalinde akut toksisite denemesinde uygulanan metil paration konsantrasyonları ve zamana göre deneme akvaryumlarında ölen balık sayıları. Her bir akvaryumda 10'ar adet balık kullanıldı.	51
Çizelge 4.3. İnci kefalinde akut toksisite denemesinde uygulanan metil paration konsantrasyonları, ilk tepki zamanı, etkilenen balık sayıları, ilk ölüm zamanı, ölen balık sayıları, % ölüm ve letal konsantrasyonlar. Her bir akvaryumda 10'ar adet balık kullanıldı.	52
Çizelge 4.4. İnci kefalinde, metil paration akut toksisite testinde belirlenen 24, 48, 72 ve 96 saat LC ₅₀ değerleri ile bunlara ait güven sınırları.	57
Çizelge 4.5. İnci kefalinde metil paration akut toksisite testinde belirlenen 24, 48, 72 ve 96 saat EC ₅₀ değerleri ile bunlara ait güven sınırları.	59
Çizelge 4.6. İnci kefalinde, metil paration akut toksisite testinde belirlenen konsantrasyonlara göre LT ₅₀ değerleri ve % 95'lik güven sınırları.	60
Çizelge 4.7. İnci kefalinde metil paration kronik toksisite testi boyunca belirlenen su kalitesi parametreleri değerleri.	62
Çizelge 4.8. İnci kefalinde metil paration kronik denemesi sonunda balıklardan alınan kan örneklerinde, hemogloblin (Hb), hematokrit (Hct), eritrosit sayısı (RBC), ortalama eritrosit hacmi (MCV), eritrosit başına düşen ortalama hemogloblin miktarı (MCH) ve	

eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonları (MCHC), Ortalama±standart hata.	65
Çizelge 4.9. İnci kefalinde metil paration kronik deneme sonunda balıklardan alınan kas, beyin ve karaciğer dokularında belirlenen asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) aktiviteleri. Ortalama±standart hata. ($P<0.05$) (verilere $\sqrt{x+1}$ transformasyonu yapıldı, Düzgüneş ve ark., (1987)). Analiz için 6 balık kullanıldı.	89
Çizelge 5.1. Çeşitli tatlı su balık türleri için farklı saflıktaki metil parationun 96 saat LC ₅₀ değerleri, güven sınırları ve değerlendirmeler (Anonim, 2008c'den kısaltılarak ve bu çalışma)	92

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

®	Tescil edilmiş ticari marka, isim
°C	Santigrat derece
µg/hücre	Mikrogram/hücre
µg/L	Mikrogram/litre
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
µm ³	Mikrometre küp
µmhos/cm	Suyun elektrik iletkenliği (mikromhos/santimetre)
‰	Binde tuzluluk
17β	17 Beta
2-PAM	Piridin-2-aldoksim metaklorid
AA	Alifatik asit
AChE	Asetilkolinesteraz
ACR	Akut kronik oranı
AliE	Aliesteraz
BChE	Butirilkolinesteraz
BT	4-benzenetriol
CaE	Karboksilesteraz
CAT	Katalaz
ChE	Kolinesteraz
cm	Santimetre
CT	Pıhtılaşma zamanı
ÇO	Çözünmüş oksijen (mg/L)
ÇOS	Çözünmüş oksijen saturasyonu (%)
DDT	Dikloro-difenil-trikloroetan
DDVP	O, O-dimetil-O- (2, 2-diklorovinil) fosfat
dk	Dakika
DM	Deltametrin
DMSO	Dimetil sülfoksit
DTNB	5,5'-ditiyobis 2 nitrobenzoik asit
E.C. 3.1.1.7	Enzim kodu
EC	Emülsifiye konsantrasyon
EC ₂₅	25 °C'de su sıcaklığına göre düzeltilmiş elektriksel iletkenlik değeri
EC ₅₀	Medyan etkili konsantrasyon
ESR	Eritrosit sedimantasyon oranı
EU/mg	Enzim ünitesi/miligram
EW	Suda yağ emülsiyonu
g	Gram
g/100 mL	Gram/100 mililitre

g/L	Gram/litre
g/mL	Gram/mililitre
g/mol	Gram/mol
G6PD	Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz
GnRH	Gonado-releasing hormon
GOT	Glutamik okzalasetik transaminaz
GPT	Glutamik pirüvik transaminaz
GPx	Glutathion peroksidaz
GSH	Glutathion
GST	Glutathion S-transferaz
Hb	Hemoglobin
Hct	Hematokrit
H-E	Hematoksilen-Eozin
HQ	Hydroquinone
iso-OMPA	Tetra isopropylamidopyrophosphate
iu/mL	International ünit/mililitre
K_m	Cihazla ölçülen elektrik iletkenliği
L	Litre
LC ₅₀	Medyan letal konsantrasyon
LOEC	Etkisi gözlemlenen en düşük konsantrasyon
log P _{ow}	Logaritma oktanol-su katsayısı
log ₁₀	10 tabanına göre logaritma
LPO	Yağ peroksidat
LT ₅₀	Medyan letal zaman
m	Metre
M	Molar
mak.	Maksimum
MATC	Maksimum kabul edilebilir toksikant konsantrasyonu
MCH	Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı
MCHC	Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu
MCV	Ortalama eritrosit hacmi
MD	Methidathion
mg	Miligram
mg/100 mg	Miligram/100 miligram
mg/g	Mili gram/gram
mg/L	Miligram/litre
min.	Minimum
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimol
mm Hg	Milimetre civa
mm ³	Milimetre küp
mol/cm	Mol/santimetre
MP	Metil paration
MPO	Metil paraoxon

MT	Malathion
M-T	Mallory Trikrom
NA	4-nitroanisol
nm	Nanometre
NOEC	Etkisi gözlenmeyen konsantrasyon
NP	4-nitrophenol
NSH	Nörosekresyon hücre
OP	Organik fosfor
ort.	Ortalama
PAS	Periyodik asit-schiff
PBS	Fosfat tamponlu tuz
PCV	Paket hücre hacmi
PH	Fenol
ppm	Parts per million (milyonda kısım)
RBC	Kırmızı kan hücresi
sa	Saat
SOD	Süper oksit dismutaz
t	Cihazla ölçülen sıcaklık
Top.	Toplam
ULV	Ultra küçük hacim sıvı
USEPA	Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Kurumu
WBC	Beyaz kan hücresi
YYÜ	Yüzüncü Yıl Üniversitesi

1. GİRİŞ

Dünyamız su bakımından zengin gibi görülmekle birlikte mevcut su miktarının kullanılabilir olanı % 1'den daha azdır. Endüstrileşme, nüfus artışı, sulanabilir tarım alanların gittikçe genişletilmesi, ekosistemlerdeki bozulmalar sonucu ortaya çıkan kuraklık ve yağış dengesizlikleri su ihtiyacını yükseltmektedir (Çetinkaya, 2003). Dünyada ve ülkemizde su ihtiyacı ve tüketimi hızlı bir şekilde artarken, su kaynakları tüketilmekte ve kirletilmektedir (Altaş ve ark., 2001).

Çevreye bırakılan ve bir şekilde su ortamlarına karışan kirletici unsurlar ve direkt olarak su ortamlarına yapılan kirletici deşarjlar suda yaşayan canlılar üzerinde olumsuz etkilere sahiptir. Su kirliliği, suyun fiziksel, kimyasal, biyolojik ve estetik özelliklerini bozacak şekilde suya bazı maddelerin ilave edilmesidir. Su kirliliğini oluşturan bu maddelere de kirletici denir (Heath, 1995).

Su kirliliğini oluşturan unsurlardan olan pestisit, bitki hastalıkları, zararlı böcekler ve yabancı otlar gibi tarımsal ürünlerin azalmasına sebep olabilecek çeşitli etmenlere karşı kullanılan kimyasal bileşiklerin hepsine birden verilen genel bir isimdir. Ya da besin maddelerinin üretimi, tüketimi ve depolanmaları sırasında besin değerini bozan ve bitkilere zarar veren böcekleri, mikroorganizmaları ve diğer zararlıları yok etmek için kullanılan kimyasal maddelerdir (Egemen ve Canyurt, 1996). Tarımsal ve diğer zararlılarla mücadelede, büyük rol oynayan tarımsal mücadele ilaçları pestisitler, istenmeyen bazı yan etkilere de yol açmıştır. Bilinçsizce yapılan pestisit uygulamaları insan, hayvan ve çevre sağlığını tehdit etmektedir (Yıldırım, 2000).

Pestisitler, doğrudan suya yapılan uygulamayla (sivrisinek mücadelesinde, suda yaşayan bitkilere karşı, vb), imalat artıklarının deşarjıyla, tarımdaki uygulamasını takiben drenaj sularına, yüzey akışı, yağmur suyu ve sulama sularına karışarak, boş pestisit ambalajlarının akarsu, göl ve denizlere atılmasıyla, atmosferik olaylarla su ortamına ulaşmakla ve yerleşim bölgelerinde insektisit

olarak kullanımla, kanalizasyona karışma ile geniş bir alandaki sulara yayılırlar (Egemen ve Canyurt, 1996; Güler ve Çobanoğlu, 1997; Atamanalp ve Yanık, 2001). Pestisitlerin su içerisindeki hareketliliği kısmen suda eriyebilirlik ve formulasyonuna bağlıdır. Suda eriyebilen veya suda eriyebilecek şekilde formüle edilen pestisitler su içerisinde dağılarak, parçalanma özelliklerine bağlı olarak fotoliz ve hidroliz olurlar. Ancak toz veya granül formda bulunanlar su içerisinde askıda kalarak uzun süre aktif maddelerin yayılmasına neden olurlar. Balık ve su içerisinde yaşayan diğer canlılar, pestisitleri solunum, beslenme, ve deriden vücuduna alırlar (Atamanalp ve Yanık, 2001).

Pestisitlerin türüne ve etki mekanizmalarına bağlı olarak organizmalar üzerinde akut ve kronik etkiler ortaya çıkar. Akut etkiler kısa sürede kendisini, maruz kalan canlının ölümüyle gösterir. Kronik etkiler ise kirleticiye maruz kalan canlının daha uzun sürede farklı etkilerle karşı karşıya kalmasına sebep olur. Kronik maruz kalma sonunda pek çok metabolik faaliyet bozulur. Kronik etkiler arasında, canlının büyümesinde gerileme, fizyolojik, biyokimyasal sorunlar, üreme bozuklukları ve anormal yeni nesillerin ortaya çıkması sayılabilir. Pestisitlerin etkilerinin belirlenmesinde akut etkiler yeterli olmayabilir hatta çok defa yanıltıcı da olabilir. Bu yüzden pestisitlerin kronik etkilerinin araştırılması ve elde edilen bilgilere göre kararlar verilmesi, tedbirler alınması gerekmektedir. Kronik etkiler ortaya konulduktan sonra pestisitlerin kullanımı, üretimi sınırlandırılabilir (Lloyd, 1992; Egemen ve Canyurt, 1996; Çetinkaya, 2005).

Su ortamında pestisitlerden akut ve kronik olarak etkilenen en önde gelen canlı grubu balıklardır. Pestisitler, balık popülasyonlarının zayıflamasına, ticari değerlerinin düşmesine, popülasyonun zamanla yok olmasına neden olmaktadır. Balık, insan için önemli bir besin olduğu için balığın kronik olarak etkilenmesi, mesela dokularında pestisiti kronik olarak biriktirmesi balığı tüketen insanların sağlığını da ciddi olarak etkilemektedir (Egemen ve Canyurt, 1996; Atamanalp ve Yanık, 2001).

Pestisitler, tarımsal ürün zararlılarına karşı yaygın ve etkin olarak 1950'li yıllardan beri kullanılmaktadır. Bütün pestisitler karada ve suda yaşayan her türlü canlıya değişen düzeylerde toksik etkilere sahiptir (Güler ve Çobanoğlu, 1997).

Sucul organizmalara ve özellikle de balıklara yönelik toksisite ve tolerans testlerinin yapılmasındaki temel amaç; bir toksik maddenin hangi konsantrasyonlarda organizmaya zararlı, hangi seviyelerde görünür bir etki yapmadığının belirlenmesidir. Elde edilen sonuçlarla, ilgili su kaynağındaki organizmanın sağlıklı olarak yaşayıp üreyebilmesi için gerekli maksimum konsantrasyonlar belirlenerek, yapılmış olan fizikokimyasal analiz sonuçlarını yorumlamaya ve değerlendirmeye yönelik bilgileri ilgili yerlere sunmaktır. Yapılan testlerle bulunan değerler, o tür için su kalitesi standartlarının ortaya konulmasında kullanılır (Sprague, 1990).

Edwards ve Tchounwou (2005), metil paration (MP)'un tarımsal bir insektisit olarak geniş bir alanda kullanılan, sertifikalı kullanıcılar tarafından veya bu kullanıcıların danışmanlığı ile kullanılan bir insektisit olduğunu, MP'nin organik fosfor (OP)'lu kimyasalların sınıflandırmasına uygun olarak asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesini engelleme kabiliyeti ile karakterize edildiğini ifade etmişlerdir. MP'nin halk sağlığı için potansiyeli üzerine özel bir vurgu ile çevresel ve toksikolojik etkileri ile ilişkilerinin eleştirel bir değerlendirilmesini çalışmışlardır. 1930'larda ortaya çıkan OP'lilerin, kimyasal savaş ajanları gibi tarihi olarak kullanılan pestisit bileşiklerinin bir grubu olduğunu ve bu bileşiklerin, maruz kalan organizmaların sinir sistemi üzerinde derin bir etkiye sahip AChE inhibisyonunu geri alınamaz şekilde etkiye sahip olduklarını, yağda çözündüklerini rapor etmişlerdir. Fosfor içeren insektisitler olan OP'lilerin insektisit özelliklerinin ilk olarak, Almanya'da 2. Dünya savaşı boyunca aşırı toksik OP'li bileşiklerden sarin (2-(floro-metil-fosforil) oksipropan), soman (3-(floro-metil- fosforil) oksi-2,2-dimetil-bütan) ve tabun (etil N,N-dimetil fosforamidosiyanidat) sinir gazları çalışmalarında gözlendiğini, bu kimyasal

grubunun malathion, diazinon, chlorpyrifos, azamethiphos, dichlorvos, parathion ve MP gibi insektisitleri içine aldığını ifade etmişlerdir.

Doğu Anadolu Bölgesinde yer alan Van Gölü havzası, yıllık 3.54×10^9 m³ su varlığıyla Türkiye su potansiyelinin önemli bir kısmını teşkil etmektedir (Munsuz ve Ünver, 1983). *Cyprinidae* familyasından olan inci kefali (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811) havza sularında yaşayan endemik bir türüdür (Akgül, 1980). Türün sürdürülebilir avcılığının yapılabilmesi, stoklarının korunması için çevre isteklerinin çok iyi bilinmesi gerekir.

İnci kefali Van Gölü havzasında, başta Van Gölü olmak üzere akarsu ve göllerde yaşayan önemli düzeyde avcılığı yapılan bir türdür. Balık, Van Gölü havzası ve çevresindeki yerleşim yerlerinde taze ve tuzlanmış olarak tüketilmektedir (Duyar, 2000; Sarı ve ark., 2004). İnci kefali 12,000 ton/yıl avcılığı ile ülkemiz iç su balıkları üretiminin % 27'sini oluşturmaktadır (Anonim, 2008a).

İnci kefali Mayıs-Haziran aylarında göle dökülen akarsulara üremek üzere girer ve yumurtasını bıraktıktan sonra geri döner. Yumurtaların döllenmesi, kuluçka dönemi, yavruların çıkışı ile bunların belirli bir süre beslenmeleri bu akarsularda gerçekleşir (Elp ve Çetinkaya, 2000).

İnci kefalinin üreme ve beslenme alanı olan akarsular (Zilan, Deliçay, Bendimahı, Karasu, Engil, Karmuç çayları vs.) aynı zamanda en yoğun tarımsal faaliyetlerin yapıldığı alanlardan geçerek göle dökülmektedir. Bölgenin iklimi gereği tarımsal faaliyetler söz konusu alanlarda, Mayıs-Eylül ayları arasında yoğunluk kazanmaktadır. Doğal olarak tarımsal mücadele ilaçlarının kullanımı da en fazla bu döneme rastlamaktadır (Sürücü, 2005). Tarımsal sulamanın en yoğun olduğu bu dönemde, akarsuların debilerinde azalma görülmekte olup, ergin balıklar, yumurtalar ve yavrular, diğer zamanlara göre kıyaslanamayacak düzeyde, çok yoğun olarak akarsularda bulunmaktadır. Öte yandan akarsuya üremek için giren balıkların su kaynaklarını takip ederek sulama yapılan tarlalara girdikleri (Elp, 2002; Elp ve ark., 2006), dolayısıyla yapılan ilaçlamalardan

etkilendikleri görülmektedir (Sürücü, 2005). Özellikle Muradiye ovasını sulayan ve sulama artıklarını toplayan Bendimahi çayında zaman zaman su yetersizliği veya sebebi belirli olmayan balık, yumurta ve yavru ölümleri kaydedilmektedir (Elp ve ark., 2006).

Van Tarım İl Müdürlüğü kayıtlarına göre, 2005 yılı itibariyle, Van ili genelinde 16,000 kg civarında pestisit tüketildiği kaydedilmiştir. Meyve, sebze ve yem bitkileri tarımında kullanılan ilaçlar arasında ön sıralarda yer alan, pestisitlerden birisi de MP'dir. Bu pestisit genellikle % 36'lık EC formunda kullanılmaktadır. MP Türkiye genelinde de oldukça fazla kullanılmaktadır. Farklı şirketler tarafından üretilerek, ithal edilerek ruhsatlandırılmış 20 kadar MP içeren ticari ürün bulunmaktadır (Yıldırım, 2000).

İnci kefalinde bazı ağır metallerin birikimi ve toksisitesi (Şen, 1993), inci kefali örneklerinde organik klorlu insektisit düzeyleri (Sağmanlıgil ve ark., 1996), inci kefalinin sıcaklık, çözünmüş oksijen ve tuzluluk toleransları (Oyar, 2000), çinkonun inci kefaline akut toksisitesi (Sönmez, 2002), OP'li pestisitlerden malathionun inci kefali üzerindeki akut toksisitesi (Sürücü, 2005) ile ilgili bazı çalışmalar yapılmıştır. Yapılan araştırmalarda bu güne kadar inci kefali üzerinde MP'nin akut ve kronik toksisitesi ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma, su ekosistemlerine tarımsal faaliyetler sonucu karışan, Van Gölü havzasında yaygın olarak kullanılan MP'nin inci kefali üzerindeki akut toksisitesi, medyan letal konsantrasyon (LC_{50}), medyan etkili konsantrasyon (EC_{50}), medyan letal zaman (LT_{50}) ve diğer toksisite parametreleri, MP'nin balığın davranışına olan etkilerinin belirlenmesi ve kronik toksisite etkilerini belirlemek amacıyla yapıldı.

Elde edilen bilgiler ışığında bu balık türü için, MP tolerans sınırı belirlenmiştir. MP'nin akut toksisitesi ve kronik toksisitesinin hematolojik, histopatolojik ve biyokimyasal etkileri ortaya konuldu. İnci kefalinin yaşadığı sularda MP için su kalitesi kriterlerinin oluşturulması hedeflenmiştir. Bu yolla inci kefalinin yaşadığı su ortamlarına yakın tarım alanlarında bilinçsiz ve aşırı

insektisit kullanımının doğurabileceği sakıncalar belirlenerek, bölge ve ülkemiz açısından ekonomik ve ekolojik yönden önemli bir tür olan inci kefalinin korunması ve popülasyonunun devamlılığının sağlanmasına katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

2.1. İnci Kefali Üzerinde Yapılmış Çalışmalar

Akgül (1980), Van Gölü kapalı havzasında yaşayan inci kefalinin biyo-ekolojisini; Özdemir (1982), Van Gölü'nde yaşayan inci kefalinin boy-ağırlık ilişkisi ve kondisyon faktörünü; Akyurt ve ark. (1985), Van Gölü havzasında yaşayan inci kefalinin büyüme durumu, gonad gelişimi, yumurta verimliliği ile et verim özelliklerini; Anonim (1986), inci kefalinin yaş dağılımı, cinsiyet oranı, embriyonik ve larval gelişim, özelliklerini; Danulat ve Kempe (1992), aşırı alkali Van Gölü'ne endemik inci kefalinde nitrojenli atık boşaltımı ve üre ile amonyak birikimini; Danulat ve Selçuk (1992), inci kefalinin morfolojik, anatomik ve biyo-ekolojik özellikleri ile çevre isteklerini; Şen (1993), Van Gölü'nde avlanan inci kefali balığında kurşun, kadmiyum, çinko ve bakır gibi ağır metallerin birikim düzeyleri ve toksik etkilerini; Odabaşoğlu (1993), Van Gölü'nde yaşayan inci kefali balığının çeşitli dokularının kimyasal bileşimini; Bilgili ve ark. (1995), Van Gölü suyunun doğal kalitesi ve buradan avlanan inci kefali örneklerinde bazı ağır metal düzeylerini; Arabacı (1995), inci kefalinin üreme dönemi öncesi, üreme zamanı ve üreme dönemi sonrası bazı kan parametrelerini; Danulat (1995), yüksek alkali ve tuzlu göllere kemikli balıkların biyokimyasal-fizyolojik adaptasyonunu çalışmışlardır.

Sağmanlıgil ve ark. (1996), Van Gölü'nde avlanan inci kefali örneklerinde organik klorlu insektisit düzeylerini çalışmışlar; incelenen 160 adet balık örneğinde organik klorlu insektisitlerden heptaklor epoksit belirlendiğini, bu pestisit balık etinde ortalama 0.0204 ppm olarak bulunduğunu, bununda düşük bir değer olduğunu, insan sağlığı açısından bir tehdit oluşturmadığını bildirmişlerdir.

Çetinkaya ve Elp (1995), Van Gölü ve göle dökülen akarsularda yaşayan inci kefalinin morfolojik anatomisi ve sistematik özelliklerini; Çetinkaya ve

Öksüz (1996), Van Gölü'nde yaşayan inci kefali popülasyonunun yapısı, büyüme, beslenme, bazı üreme özellikleri ve avcılığını; Sarı (1997), Van Gölü'nde yaşayan inci kefalinin stok miktarının tahmini ve balıkçılık yönetim esaslarının belirlenmesini; Sarı ve Arabacı (1997), inci kefali popülasyonunun üreme ve fekunditesini; Tozlu (1997), inci kefali eritrositlerinden afinite kromatografisi ile saflaştırılan karbonik anhidraz enziminin kinetik ve elektroforetik özelliklerini; Tozlu ve Arslan (1997), inci kefali eritrositlerinden saflaştırılan karbonik anhidrazın hidrataz ve esteraz aktivitesinin sülfanamidler ve anyonlar tarafından inhibisyonunu; Kocabaş (1999), Nazik Gölü inci kefali popülasyonunun yapısı, büyüme, üreme ve beslenme özelliklerini; Bilgili ve ark. (1999), Van Gölü'nden avlanan inci kefali örneklerinde arsenik düzeylerini araştırmışlardır.

Testereci ve ark. (1999), Van Gölü balığında Karbonik-Anhidraz'ın esteraz aktivitesi üzerine çalışmışlar; balığın iç sisteminde pH'sının regülasyonunda solungaç ve karaciğerlerinde bulunan karbonik anhidrazın önemli rolü olduğunu göstermiştir.

Ünal ve ark. (1999), inci kefali gonad gelişiminin histolojisini çalışmışlar; oogenesis süresince kromatin-nükleolus, perinükleer, kortikal alveoli, vitellogenik, olgunlaşma ve ovulasyon olmak üzere 6 gelişim fazının olduğunu, oositlerin ovulasyon fazına kadar çaplarının 31-957 µm arasında değiştiğini, incelenen fertlerde vitellogenik fazın Ekim'de başladığı, ovulasyonun 36 aylık ve daha yaşlı fertlerde Mayıs-Haziran aylarında gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Elp ve Çetinkaya (2000), Van Gölü ve göle dökülen akarsulardaki inci kefalinin üreme biyolojisini çalışmışlardır.

Ünal ve ark. (2000), Van Gölü havzasının endemik bir balık türü olan inci kefalinin embriyonik ve larval gelişimini çalışmışlar; doğal ortamdan yakalanan olgun erkek ve dişi balıkların yumurta ve spermlerini alarak suni dölleme yaptıklarını, döllenmiş yumurtaları 18-20 °C'de kuluçkaladıklarını, bu sıcaklık aralığında kuluçkalamanın 62-70 gün-derece olduğunu, yumurtadan çıkan larvaların pigmentsiz, hareketsiz olduğu ve toplam uzunluklarının 6.5-7.0 mm

olduğunu, dış beslenmeye 6. günde başladığını, 8. günde besin kesesinin tamamen absorbe edildiğini bildirmişlerdir.

Oyar (2000), inci kefalinin sıcaklık, çözünmüş oksijen ve tuzluluk toleransları üzerinde çalışmıştır. Döllenen inci kefali yumurtaları için düşük sıcaklık 96 saat LC₅₀ değeri 7.92 °C, yüksek sıcaklık değeri ise 24.30 °C, tolerans aralığı 8-24 °C; larvaların 96 saat LC₅₀ değeri düşük sıcaklık için 8.61 °C, yüksek sıcaklık için 28.78 °C olarak; tolerans sınırları ise 9-28.5 °C olarak tespit edilmiştir. Yetişkin balıklarda sıcaklık toleransı 1-28 °C olarak belirlenmiştir. İnci kefali larvalarında, 22-24 °C'de çözünmüş oksijen LC₅₀ değeri, 1.4 mg/L; çözünmüş oksijen toleransı 1.6 mg/L olarak; yetişkin balıkların 19 °C'de çözünmüş oksijen LC₅₀ değeri 1.0 mg/L, tolerans sınırı ise 1.4 mg/L olarak; inci kefali larva ve yetişkinlerinin düşük oksijen konsantrasyonlarına toleranslı oldukları belirlenmiştir.

Tatlısu ortamında döllenmiş yumurtalar için 96 saat tuzluluk LC₅₀ değeri ‰ 7.98, toleransı ise ‰ 7.5 olarak; larvaları için LC₅₀ değeri ‰ 13.61, toleransı ‰ 13.5; yetişkinler için LC₅₀ değeri ‰ 11.58, toleransı ‰ 11.5 olarak bulunmuştur. İnci kefali yumurta, larva ve yetişkinlerinin tuzluluğa toleransı (eurohalin) olduğu görülmektedir (Oyar, 2000; Oyar ve Çetinkaya, 2000).

Koyuncu (2000), Van Gölü'nde yaşayan inci kefali merkezi sinir sisteminin anatomik ve histolojik karakterlerini incelediği çalışmada; yaklaşık 23 mm uzunlukta olan balık beyнинin 12 mm'sini ön beyin oluşturduğunu, beyin ağırlığının vücut ağırlığına oranının % 0.4 olduğunu, koklama loblarında tabakalaşmanın olduğunu, beyin anatomik olarak Cyprinid tip ön beyin lobu düzenine, histolojik olarak everse tip telensefalik yarım kürelere sahip olduğunu bildirmiştir.

Alırız (2000), inci kefali plazma ve eritrositlerinden AChE enziminin (E.C.3.1.1.7) afinite kromatografisi ile saflaştırılmasını çalışmış; saflaştırma oranlarını plazma AChE için 3251.6, eritrosit AChE için ise 8500 olduğunu bildirmiştir.

Arabacı ve ark. (2001), Van Gölü'nde yaşayan endemik inci kefalinin yumurtlama öncesi, yumurtlama zamanı ve yumurtlama sonrası süresince serum iyon içeriğini araştırmışlardır.

Ünal ve ark. (2001), inci kefalinin sindirim sistemi ve yüzme kesesinin histolojisi ve organogenezisini çalışmışlar; balık yumurtaların kuluçkalanmasından sonra sindirim kısmının farklılaşmamış basit bir tüp şeklinde olduğunu, 6. günde dış beslenmeye başladığını, 9. günde besin kesesinin tamamen çekildiğini, goblet hücrelerinin ilk olarak 4. günde bukko-farangial boşluk ve oesofagusta, 9. günde anteriorde, 5. günde posterior barsakta görüldüğünü bildirmişlerdir.

Elp (2002), Koçköprü baraj gölü'nde (Van) yaşayan siraz ve inci kefali popülasyonları üzerine çalışmıştır.

Sönmez (2002), çinkonun (Zn^{+2}) inci kefali üzerine akut toksisitesini sert suda (254 mg/L $CaCO_3$) 0.068-91.0 mg/L ve yumuşak suda (41 mg/L $CaCO_3$) 0.068-40.0 mg/L arası Zn^{+2} konsantrasyonlarında, statik biyo-deney yöntemiyle, 24-96 saatlik periyotlarda araştırmıştır. Sert suda 24, 48, 72, 96 saatlik Zn^{+2} LC_{50} değerleri sırasıyla; 17.09 mg/L, 17.13 mg/L, 16.02 mg/L ve 16.02 mg/L olarak; LT_{50} değerleri 91.0 mg/L, 57.80 mg/L, 24.10 mg/L, 13.08 mg/L Zn^{+2} konsantrasyonlarında sırasıyla 3 sa 14 dk, 3 sa 45 dk, 4 sa 40 dk ve 4 sa 43 dk olarak belirlemiştir.

Yumuşak suda 24, 48, 72 ve 96 saatlik Zn^{+2} LC_{50} değerleri sırasıyla; 10.33 mg/L, 10.22 mg/L, 9.92 mg/L ve 9.92 mg/L, LT_{50} değerleri; 40.00 mg/L, 24.00 mg/L, 14.40 mg/L, 8.64 mg/L ve 5.18 mg/L Zn^{+2} konsantrasyonlarında sırasıyla; 3 sa 25 dk, 4 sa 18 dk, 11 sa 14 dk, 74 sa 34 dk ve 93 sa 57 dk olduğunu bildirmiştir. Zn^{+2} toksisitesinin en belirgin etkilerinin, aşırı mukus üretimi, ağır solunum problemleri, asfeksi, ortamdan uzaklaşma çabası ve denge kaybı olduğunu tespit etmiştir. İnci kefaline Zn^{+2} 'nin akut toksik etkisinin yumuşak suda sert suya göre daha fazla olduğunu; LC_{50} 'nin yumuşak suda daha düşük; LT_{50} 'nin daha kısa sürede gerçekleştiğini tespit etmiştir. Çinkonun toksik etkilerinin 24 sa

İNİNDE GERÇEKLEŞTİĞİNİ DAHA SONRA ÖLÜMLERİN AZALDIĞINI YA DA HAYATTA KALANLARIN ÇINKOYA ALIŐTIĐINI GÖZLEMLEMİŐTİR (SÖNMEZ, 2002).

OĞUZ (2002), İNCİ KEFALİ KARACİĞERİNİN HISTOLOJİK YAPISI VE KARACİĞERDEKİ TOTAL YAĞ VE GLİKOJEN SEVİYELERİNİN ÜREME SIKLUSUNA BAĞLI OLARAK DEĞİŞİMİNİ ÇALIŞMIŞ; KARACİĞERDEKİ LİPID SEVİYESİ ŐUBAT AYINDA EN FAZLA (70.333 mg/g), EKİM AYINDA EN DÜŞÜK OLARAK (47.1 mg/g), GLİKOJEN SEVİYESİNİN OOSİT GELİŐİMİNE BAĞLI OLARAK DEĐİŐİM GÖSTEREREK HAZİRAN AYINDA EN FAZLA (1.00 mg/100 mg), MART AYINDA EN DÜŞÜK SEVİYEDE (0.059 mg/100 mg) OLDUĞUNU BİLDİRMIŐTİR.

GÜLOĞLU (2003), KOYUN KARACİĞERİNDEN AChE'nİN (E.C.3.1.1.7) AFİNİTE KROMATOĞRAFİSİ İLE SAFLAŞTIRILMASI, KARAKTERİZASYONU VE BAZI ANTİBİYOTİK VE AĞRI KESİCİLERİN İNHİBİSYON ETKİLERİNİ ÇALIŐMIŐTİR.

ALIRIZ VE TÜRKÖĞLU (2003), VAN GÖLÜ BALIĞININ PLAZMA VE ERİTROSİTLERİNDEN AChE'nİN SAFLAŞTIRILMASI VE KARAKTERİZASYONUNU ÇALIŞMIŞLAR; ENZİMATİK AKTİVİTENİN BELİRLENMESİNDE OPTİMUM pH'nIN 8.0 VE OPTİMUM SICAKLIĞIN 25 °C OLDUĞUNU BİLDİRMIŐLERDİR.

KAPTANER (2004); KAPTANER VE ÜNAL (2006), İNCİ KEFALİNDE OVULASYONDAN SONRA OVARYUM FOLİKÜL HÜCRELERİNDE APOPTOZU ÇALIŞMIŞ; APOPTOZUN İNCİ KEFALİNDE POSTOVULASYON FOLİKÜLLERİNİN ORTADAN KALDIRILMASINDA ROL OYNADIĞINI, 17β ÖSTRADİOLÜN DÜŞÜK SEVİYESİNİN POSTOVULASYON FOLİKÜL APOPTOZUNU HIZLANDIRDIĞINI BELİRLEMİŞTİR.

ALTUN (2005), VAN GÖLÜ BALIĞININ KARACİĞERİNDEN VE ERİTROSİTLERİNDEN GLUKOZ-6-FOSFAT DEHİDROGENAZ (G6PD) ENZİMİNİN (E.C.1.1.1.49) AFİNİTE KROMATOĞRAFİSİ İLE SAFLAŞTIRILMASI VE KARAKTERİZASYONUNU ÇALIŞMIŞ; ENZİMİN SAFLAŞTIRMA ORANI VE MOLEKÜL AĞIRLIĞI SIRASIYLA KARACİĞERDE 26.156 KAT, 131.900 DA VE ERİTROSİTTE 2543 KAT VE 131.650 DA OLARAK BULUNDUĞUNU, ENZİMİN OPTİMUM pH'sI KARACİĞER G6PD İÇİN 8, ERİTROSİT G6PD İÇİN 8.5, OPTİMUM SICAKLIĞI HEM KARACİĞER G6PD İÇİN HEM DE ERİTROSİT G6PD İÇİN 40 °C OLDUĞUNU BİLDİRMIŐTİR.

Ekici ve ark. (2005), inci kefalinin serum ve karaciğer dokularında GPT ve GOT enzim seviyelerini bularak su kirliliğini belirlemeye çalışmışlar; serum GPT seviyeleri arasında Van Gölü İskele bölgesinde ve karaciğer GOT seviyeleri arasında Gevaş ile Erciş, İskele ile Gevaş bölgelerindeki farkın önemli olduğunu bulmuşlardır.

Sürücü (2005), OP'li pestisitlerden malathion (MT)'un inci kefali üzerindeki akut toksisitesini çalışmış; balıklara I. denemede 0.000-51.783 mg/L MT ve II. denemede 0.000-16.850 mg/L MT konsantrasyonlarını statik biyodeneş yöntemiyle 96 saat süre ile uygulamış, MT'nin 3.5 mg/L konsantrasyonundan başlamak üzere toksik olduğunu, 24 saat LC₅₀ değerinin 14.366 mg/L ve EC₅₀ değerinin 11.642 mg/L olduğunu bulmuştur. LT₅₀ değerinin konsantrasyonla değiştiğini ve 2 ile 130 saat arasında olduğunu bildirmiştir. MT'nin toksik etkilerinin 1-2 saat içerisinde ortaya çıktığını, ölümlerin yoğun olarak ilk 24 saat içinde gerçekleştiğini, daha sonra gerçekleşen ölümlerin oldukça az olduğunu, inci kefalinde MT'nin toksisitesinin belirtilerinin yüzme bozukluğu ve dengesiz hareketler, denge kaybı, kabın dibine düşme, solunum sorunları, asfeksi ve ölüm olduğunu gözlemiştir.

MT'nin inci kefali üzerinde orta derecede toksik olduğu, türün diğer bir çok balık türüne göre MT toksisitesine daha dayanıklı olduğu, tatlı su ve hafif bazik pH'da güvenli konsantrasyonun 0.144 mg/L MT olduğunu bildirmiştir (Sürücü, 2005).

Akçocuk (2006), inci kefali beyinde nörosekresyon hücrelerinin (NSH) dağılımı ve gonado-releasing hormon (GnRH) salgılayan hücrelerin immuno histokimyasal olarak işaretlenmesini çalışmış; NSH'nin beyin bütün bölgelerinde gözlendiğini, ancak sayı, dağılım ve büyüklük bakımından farklılıklar olduğunu, GnRH salgılayan hücreler olfaktoriyal çıkıntılarda homojen dağılım gösterirken telensefalonda ise area ventralis telencephalis pars dorsalisde yoğun olarak bulduklarını bildirmiştir.

Akman (2007), Van Gölü balığının beyin ve karaciğerinden AChE'nin (E.C.3.1.1.7) afinite kromatografisi yöntemi ile saflaştırılması ve karakterizasyonunu çalışmış; beyinde saflaştırma oranını 344 kat, karaciğerde saflaştırma oranını 142 kat olarak, enzimin optimum pH'sını 8, optimum sıcaklığın ise 35 °C olarak, iyonik şiddet etkisinin belirlenmesinde en yüksek aktivitenin 0.2 M NaH₂PO₄ konsantrasyonunda görüldüğünü belirlemiştir.

Ünal ve ark. (2007), anormal gonadlara sahip inci kefalinin gonad histolojisi ve bazı biyokimyasal karakterlerini çalışmışlar; oositlerin perinüklear ve erken kortikal alveolar safhada dejenere olduğunu, ovaryumların somatik stroma dokusu ile dolu olduğunu, anormal testisli erkek balıkların seminifer tübüllerin hiçbir safhada erkek üreme hücrelerini içermediğini, doğal ortamdan yakalanan balıkların ovaryumlarının perinüklear ve erken kortikal alveolar safhada oositlerle dolu olduğunu ancak daha az atretik folikül bulunduğunu, özellikle folikül hücrelerinde balıkların ovaryum hücrelerinde apoptozis gözlendiğini, AChE aktivitesinin sadece karaciğerde inhibe olduğunu bildirmişlerdir.

2.2. Metil Paration Toksisitesi Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Pestisitler balıklara olan toksiklikleri açısından sınıflandırıldığında; çok zehirli, zehirli, orta derecede zehirli, tehlikeli, az zehirli, çok az zehirli ve zehirsiz şeklinde 7 grup altında toplanmıştır (Yıldırım, 2000). Araştırma konusu olan MP'nin akut toksisite aralığı "orta derecede zehirli" pestisitler kategorisinde yer almaktadır (Anonim, 2007).

MP'nin kuşlara toksisitesi çok yüksek-yüksek aralığında, *Daphnia spp.*, *Gammarus spp.* gibi akuatik omurgasızlar için çok yüksek toksiktir (Anonim, 1996).

Macek ve McAllister (1970), *Ictaluridae*, *Cyprinidae*, *Centrarchidae* ve *Salmonidae* familyalarının üyelerinin insektisitlere hassasiyetlerini belirlemede statik akut biyodeneyle yapılarak, LC₅₀ değerini 9 insektisite karşı test edilen 12

balık türü için hesaplamışlardır. Balık türlerinin, organik klorlu insektisitler DDT, toksofan, lindan ve OP'li insektisitler Baytex® ve MP'ye hassasiyetleri minimumdur. OP'li insektisitlere (malathion ve Guthion®) türlerin duyarlılıklarında nispeten büyük farkların gözlemlendiğini, farklı balık türlerinde karbamatlı insektisitler carbaryl ve zectrana hassasiyetlerin kolay anlaşıldığını, genelde insektisitlere hassasiyetin, az hassas olan *Ictaluridae* ve *Cyprinidae* gruplarında benzer, test edilen familyalar arasında *Salmonidae* türlerin çok hassas olduğunu rapor etmişlerdir (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. 12 balık türünün metil parationa 96 saat LC₅₀ değeri ve nispi hassasiyetleri (Macek ve McAllister, 1970)

Balık		MP'nin 96 saat	MP'ye nispi
Familya	Türler	LC ₅₀ değerleri (µg/L)	hassasiyetleri*
<i>Ictaluridae</i>	<i>Ictalurus punctatus</i>	5710 (4190-7800)	2.1
	<i>Ictalurus melas</i>	6640 (4970-8880)	2.4
<i>Cyprinidae</i>	<i>Carassius auratus</i>	9000 (8100-9900)	3.3
	<i>Pimephales promelas</i>	8900 (7780-10200)	3.2
	<i>Cyprinus carpio</i>	7130 (6440-7870)	2.6
<i>Centrarchidae</i>	<i>Lepomis microlophus</i>	5170 (4410-6090)	1.9
	<i>Lepomis macrochirus</i>	5720 (4910-6660)	2.1
	<i>Micropterus salmoides</i>	5220 (4320-6310)	1.9
<i>Salmonidae</i>	<i>Salmo gairdneri</i>	2750 (1500-4900)	1.0
	<i>Salmo trutta</i>	4740 (3900-5750)	1.7
	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	5300 (4900-5600)	1.9
<i>Percidae</i>	<i>Perca flavescens</i>	3060 (2530-4490)	1.1

* MP'ye çok hassas türler için oran 1.0 olarak verilmiştir.

Nagaratnamma ve Ramamurthi (1981), tarımsal işlerde yoğun olarak kullanılan OP'li pestisitlerden birisi olan MP'nin, akuatik ekosistemin test türlerinden olan sülük (*Poecilobdella granulosa*), tatlı su yengeci (*Ozietelphusa*

senex senex), tatlı su midyesi (*Lamellidens marginalis*), havuz salyangozu (*Pila globosa*) ve sazan (*Cyprinus carpio*)'a toksisitesinin karşılaştırmalı bir değerlendirmesini yaptıkları çalışmada, yoğun bir araştırma programı yürütülen sazan balığı üzerine MP'nin toksisitesinin balık vücut ağırlığına etkisini de tespit etmişlerdir. MP'ye yengeç ve sülügün az toleranslı olduğunu, yumuşakçaların çok iyi tolerans sergilediklerini, balığın da oldukça iyi direnç gösterdiğini bildirmişlerdir. MP toksisitesinin balık vücut ağırlığına etkilerini belirlemek için 100-500 mg ve 30-40 g ağırlığındaki sazan balıklarını kullanmışlar ve sazan fingerliklerinin MP'ye daha fazla hassas oldukları, vücut ağırlığındaki artışla MP'ye dirençte dereceli bir artışın olduğunu bildirmişlerdir.

Murty ve ark. (1984), tatlı su balığı *Mystus cavasius* üzerine MP ve fensulfothionun toksik etkilerini araştırdıkları çalışmada, balıklarda ciddi morfo-anatomik deformasyonlar ve davranış değişikliklerinin meydana geldiğini, MP'nin balığın midesinin şişmesine ve ventral bölgesinin yumuşamasına neden olduğu, fensulfothionun balığın lateral olarak kıvrılmasına sebep olduğunu bildirmişlerdir. Her iki pestisit de daha yüksek konsantrasyonlarında pestisit konsantrasyonunun artışına bağlı olarak oksijen tüketim işleminin azalmasıyla birlikte balığın oksijen alımının etkilendiğini rapor etmişlerdir.

Rao ve Rao (1984a), 48 saat süreyle MP'nin subletal stresi altında *Oreochromis mossambicus*'un bazı dokularında total lipit, fosfolipitler, serbest yağ asitleri ve total kolesterol seviyelerini çalışmışlar; MP'ye maruz bırakma boyunca serbest yağ asitleri ve total kolesterol seviyeleri artarken total lipit ve fosfolipit seviyelerinin azaldığını bildirmişlerdir.

Rao ve Rao (1984b), *Tilapia mossambica*'nın kas, solungaç, karaciğer ve beyin dokularında AChE aktivitesi üzerine eserin inhibisyonu ve MP'nin toksik etkilerini çalışmışlar; buna göre asetilkolin içeriği uygun bir artış gösterirken, AChE aktivitesinin tüm dokularda azaldığını, bununda sinir uyarılarının iletimlerinin bozulduğunun göstergesi olduğunu bildirmişlerdir. AChE aktivitesi

üzerine eserin in vitro etkisinin, MP'nin etki tipleri ile farklılık gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Moorthy ve ark. (1985), MP'nin subletal konsantrasyonu (8 ppm)'na maruz bırakılan tatlı su midyesi *Lamellidens marginalis*'in hepatopankreas ve solungaçlarında glikoz metabolizmasındaki değişiklikleri çalışmışlar; glikojen ve piruvatta hafif bir azalış, laktat seviyelerinde artış gözlemlediklerini rapor etmişlerdir.

Da Silva ve ark. (1993), OP'li MP içeren Folidol 600'ün *Callichthys callichthys* üzerine subletal etkilerini çalışmışlar; kimyasalın uygulamasını takiben balıkların davranış ve plazma kolinesteraz seviyelerinin akut denemeler süresince analiz edildiğini, plazma kolinesteraz (ChE) aktivitesinin denemenin başlangıcından 4 saat sonra % 90 inhibe olduğunu, 4 gün boyunca inhibisyon seviyesinin devam ettiğini, 8-10. günlerde yavaş yavaş iyileştiğini ve denemenin başlangıcından sonra 35. günde normal seviyesi olan % 80-90'a ulaştığını bildirmişlerdir. Ayrıca, ilk 96 saatte denge kaybı ile birlikte hareketlerde yavaşlama, sıklıkla doğal olmayan vücut pozisyonu, besin alımının yetersizliğinin yol açtığı koordinesiz hareketler ve solunum frekansı seviyesindeki artış gibi pek çok davranış değişiklikleri gözlemiştir.

Boone ve Chambers (1997), *Gambusia affinis*'in biyokimyasal sistemleri üzerine chlorpyrifos, parathion ve MP toksisiteleri arasında farklılıklara neden olan faktörleri belirlemek için deney yapmışlar; buna göre, chlorpyrifosun parathiondan çok daha toksik, MP toksisitesinin diğerlerine göre daha düşük olduğunu, beyin ve kas ChE ile hepatik aliesteraz (AliE)'in chlorpyrifos-oxonun paraoxondan daha duyarlı olduğunu, ardından methyl paraoxonun geldiğini bildirmişlerdir.

Fanta ve ark. (2003), OP'li MP'nin subletal dozunun su ve besin yoluyla kontaminasyon etkilerini, tatlı su balığı *Corydoras paleatus* üzerine, balığın kimyasala karşı absorpsiyon tepkisi için solungaç ve barsak dokuda, metabolizma tepkisi için karaciğer dokusunun histopatolojisini çalışmışlardır. İlk olarak besinle

kontaminasyondan hemen sonra, arkasından suyla kontaminasyondan sonra solungaç solunum lamellalarında, epitel hiperplasi, ödem ve ayrılmaların meydana geldiğini, temel olarak kontamine besinlerin mideye alınmasından sonra barsakta enterosit lipoid vakuolizasyon, apical sitoplazma ve goblet hücre aktivitelerinde bir artışın olduğunu tespit etmişlerdir. MP uygulamasından sonra 8-24. saatler arasında en yüksek dejenerasyonun olduğunu, solungaç ve barsak yoluyla kontaminasyondan sonra karaciğerde, açık olmayan şişlik, safrada durgunluk, fokal nekroz, atrofi ve vakuolizasyon oluştuğunu belirlemişlerdir. Karaciğer fonksiyonuna bağlı metabolik işlemlerin, kontaminasyonun iki şekliyle de eşit olarak bozulduğunu, ancak su ve besin yoluyla kontaminasyonun bir sonucu olarak solungaç ve barsak patolojilerinin ikincil etkilerin değiştiğini, bu yüzden MP'nin güvenli subletal dozunun *Corydoras paleatus*'da ciddi sağlık problemlerine sebep olduğunu rapor etmişlerdir.

Machado ve Fanta (2003), balıklar için hayati yapılar olan solungaçların, osmoregülasyon, asit-baz dengelemesi, nitrojenli bileşiklerin atılımı ve tat alma için kısmen sorumlu olduğu kadar gazların değişimi için önemli bir yer olduğundan sudaki kimyasalların balığın branşial hücrelerin morfolojilerini değiştirebildiğini, bu yüzden çevresel etki ve ekotoksikolojik çalışmalar için kullanışlı bir model olduğunu bildirmişlerdir. MP'li bir bileşik olan Mentox 600 CE'nin letal (7 ppm) ve subletal (1 ppm) konsantrasyonlarının, tatlı su balığı *Metynnis roosevelti* balığının solungaçları üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada, ışık ve tarayıcı elektron mikroskobu kullanarak branşial epitelin küçüldüğünü, ayrılmayı takip ettiğini ve hiperplasi gözlendiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca harici olarak aşama aşama mikro sıralanışın kaybolduğu branşial filamentlerin mevcut olduğunu, hatta MP'nin subletal dozunda balığın sağlık ve zindeliğinin azaldığını, branşial epiteldeki değişimlerin sonucu olarak balığın oksijenleşme ve iyon dengelemesinin zayıfladığını rapor etmişlerdir. Branşial epitel üzerine MP'nin etkilerinin oldukça şiddetli olduğunu, solungaç lamellalarının organizasyonunun yapısal değişikliklere uğradığını, epitel

ayrılmaların, nekrozun, hiperplasinin, mikro sıralanışında kayıp ve hücrel morfolojide değişimlerin olduğunu bildirmişlerdir.

Milam ve ark. (2004), MP'nin, ticari saflığı % 43.8 olan solüsyonu kullanılarak, 6.6 mg/L MP konsantrasyonunda yaklaşık 6,435 L olan karışım uygulanan sulak alan mesokozm içerisinde MP'nin uygulamadan hemen sonra, 30 dk, 3 saat, 6 saat, 24 saat, 96 saat ve 10 gün sonraki akıbetini ve etkilerini belirlemek için vejetasyonlu ve vejetasyonsuz 2 bölgede çalışmışlar, bu alanlara ait su, sediment ve bitki örneklerini analizlemiş ve MP konsantrasyonlarının akuatik fauna üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Sudaki ortalama MP konsantrasyonunun sulak alanın vejetasyonlu kesiminde 0.5-15.4 µg/L, vejetasyonsuz kesiminde 0.1-27.0 µg/L olduğunu bildirmişlerdir. MP uygulamasından 3, 24 ve 96 saat ile 10 gün sonra, sulak alanın vejetasyonlu ve vejetasyonsuz bölgelerinde kıyıda 5, 10, 20 ve 40 m açıktaki yüzeyden alınan su örneklerinin *Ceriodaphnia dubia*, *Pimephales promelas*, *Hyaella azteca* üzerine ve aynı bölgelerde kıyıda 5, 10 ve 20 metre açıktan alınan sediment örneklerinin *Chironomus tentans* üzerine akut toksisitesini çalışmışlardır. MP uygulamasından 3 saat sonra ortalama 9.6 µg/L MP konsantrasyonu ile vejetasyonsuz sulak alanın 10 m'deki istasyonunda *Pimephales promelas*'ın hayatta kalma oranının % 68 oranında azaldığını, MP uygulamasından 10 gün sonra vejetasyonlu ve vejetasyonsuz her iki sulak alandaki *Ceriodaphnia dubia*'ların MP konsantrasyonuna hassaslaştığını, MP uygulamasından 10 gün sonra 5 m vejetasyonlu bölgede *Hyaella azteca*'nın, MP (2.2 µg/L)'ye maruz bırakılmasının önemli derecede ölümlere yol açtığını tespit etmişlerdir. MP uygulamasından 3 saat sonra vejetasyonsuz sulak alandan alınan sediment örneklerinde 10 günlük katı-faz akut toksisite test yöntemiyle *Chironomus tentans* üzerine yapılan testlerde % 65 hayatta kalma ve büyümelerinde önemli azalma görüldüğünü, vejetasyonlu ve vejetasyonsuz her iki sulak alandaki sediment örneklerinde *Chironomus tentans*'ın hayatta kalma ortalamasının % 87'den büyük olduğunu, dolayısıyla akuatik biotada MP'ye maruz kalmanın etkilerini azaltmada sulak alanların önemli bir rolünün olduğunu bildirmişlerdir.

De Aguiar ve ark. (2004), etken maddesi MP olan Folidol 600'ün 2 ppm (96 saat LC₅₀ değerinin 1/3'ü) konsantrasyonuna neotropikal tatlı su balığı *Brycon cephalus*'u, 96 saat süreyle maruz bırakmışlar ve 24, 48, 96 ve 192 saat süreyle iyileşmesini takiben, AChE'yi beyin, karaciğer, kas ve plazmada çalışmışlardır. AChE aktivitesinin, iyileşme süresince plazmada % 64 ve beyinde % 87 oranında azalarak beyinde güçlü olarak inhibe olduğunu bildirmişlerdir. Enzimlerin çalışılmasının OP'li kontaminasyonların iyi biyomarkerleri olduğunu söylemişlerdir. Balık ve insanlarda OP'li pestisitler veya onların aktif türevleri (oxonlar)'nin hedef enziminin AChE olduğunu ve bu pestisitlerin AChE inhibisyonunun, sinaptik asetilkolin birikimi için gerekli olan kolinerjik sinir uyarılarının bozulması şeklinde tanımlamışlardır. AChE inhibisyonunun kendi kendine iyileşme süresinin 8-10 gün olduğunu ve metabolik düzensizliklerinin iyileşmesi için geçen sürenin bir haftadan daha az olduğunu bildirmişlerdir. Balıklardaki AChE stoklarının genellikle diğer memelilerdeki olandan daha büyük olduğunu ve yaşama destek olmak için AChE'nin daha düşük miktarlarına ihtiyaçtan dolayı AChE inhibisyonu seviyeleri balıklarda ölüm gerçekleşmeden önce daha yüksek olması beklendiğinden zehirlenmenin büyüklüğünün değerlendirilmesinde AChE'nin aktivitesinin belirlenmesinin büyük öneme sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

De Almeida ve ark. (2005), çevresel MP konsantrasyonu (2 ppm)'na 24 saat süreyle maruz bırakılan *Brycon cephalus*'un beyaz kas ve beyin dokusunda AChE'nin enzimatik aktivitesini belirlediği çalışmada; AChE'nin kasta % 64, beyinde % 69 inhibe olduğunu, bu aktivitelerin pestisite maruz kalmadan 8 gün sonra iyileşmediğini, kas ve beyin dokusundan AChE'nin MP'nin küçük miktarları ile inhibe olarak azaldığını, temel etkinin beyinde gözlendiğini bildirmişlerdir.

Monteiro ve ark. (2006), MP'nin tarımda ve zararlı böceklerin geniş bir spektrumuna karşı yüksek aktivitesi nedeniyle evrensel olarak kullanılan OP'li bir insektisit olduğunu bildirmişler ve *Brycon cephalus*'un MP'nin ticari bir

formulasyonunun (MP: Folisuper 600[®], MP 600 g/L) 2 mg/L'sine 96 saat süreyle maruz bırakılması sonrası karaciğer, beyaz kas ve solungaç dokularının, katalaz (CAT), glutathion peroksidaz (GPx), superoksit dismutaz (SOD), glutathion S-transferaz (GST), azaltılan glutathion (GSH) ve yağ peroksidat (LPO) üzerine etkilerini çalışmışlardır. MP'ye maruz bırakmanın, bütün dokularda SOD, CAT ve GST aktivitelerine ait sonuçlarda önemli bulunduğunu, GPx aktivitesinin beyaz kas ve solungaçlarda önemli olarak azaldığını, hepatik GPx aktivitesinde değişiklik gözlenmediğini rapor etmişlerdir. MP'nin, hepatik LPO seviyelerinde önemli bir değişikliğe sebep olmadığını, beyaz kas ve solungaçlarda LPO değerinde önemli bir artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Balıkta oksidatif strese neden olma potansiyeline sahip MP için geçerli bilgilerin önerildiğini, solungaç ve beyaz kas dokularının zayıf antioksidant potansiyeli ile *Brycon cephalus*'un çok duyarlı organları olduğunu ve bu çalışmada ele alınan çeşitli parametrelerin MP'ye maruz kalmanın biyomarkerleri olarak kullanılabileceğini rapor etmişlerdir.

2.3. Organik Fosforlu Pestisitlere Maruz Bırakılan Akuatik Organizmalar ve Bunlardan Alınan Kan ve Doku Örnekleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Sahib ve ark. (1980), geniş bir kullanım alanı olan, OP'li insektisitlerden malathionun, hedef olmayan türlerden olan balık ve tatlı su midyelerinde ciddi metabolik bozukluklar meydana getirdiğini, sinirsel iletici asetilkolinin miktarını ayarlayan enzim olan AChE'nin inhibisyonu ile sinir sistemini etkilediğini rapor etmişlerdir. Bir organizmanın, OP'li pestisitleri detoksifiye edebilmesinin birkaç metabolik yolunun olduğunu, toksik etkilenme süresince organizmanın fizyolojik durumunun pestisit etkisinin anlaşılmasında dikkate alınması gerektiğini ifade etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada, *Tilapia mossambica* balığını malathiona maruz bırakma sonrası 12 saat aralıklarla beyin, kas, solungaç ve karaciğer dokularında AChE aktivitesi ve asetilkolin içeriği üzerine etkilerini araştırmışlar, maksimum AChE inhibisyonunun 36 ve 48. saatlerde gerçekleştiğini, 72 saat sonra AChE

aktivitesinin tamamen yeniden düzeldiğini, muhtemelen uygun asetilkolin birikimiyle enzim aktivitesinin inhibisyonunun azaldığını bildirmişlerdir.

Ansari ve Kumar (1984), OP'li pestisitlerden malathiona maruz bıraktıkları *Brachydanio rerio*'un sinir doku (beyin)'da AChE aktivitesinin önemli ölçüde inhibe olduğunu, inhibisyonun zamana bağlı olduğu kadar doza da bağlı olduğunu, balıkların enzim aktivitesi inhibisyonunun % 90'lara ulaştığında bile yaşadığını, balıkların malathiona maruz bırakma sona erdirildiğinde aktivitenin önemli ölçüde iyileştiğini bildirmişlerdir.

Uluköy ve Timur (1993), sudak balığı (*Stizostedion lucioperca* L.)'nı pestisitlerden supracide, captan ve kelthanenin 0.01 mg/L ve 0.1 mg/L konsantrasyonlarına maruz bırakmışlar, balıklardan alınan kan ve doku örneklerini çalışmışlardır. Buna göre; kelthane uygulanan balıkların kanında eritrositlerin şekillerini kaybederek parçalandıklarını, diğer pestisitlerin balıkların kan hücrelerinde morfolojik değişikliklerin yanı sıra, supracide pestisitine karşı vakuollü monositlerin oluştuğunu ve fagosite olmuş supracide kristallerin dikkat çekici bulunduğunu bildirmişlerdir. Dokularda tespit edilen histopatolojik bulguların; karaciğer hücrelerinde vakuoler dejenerasyon, hemorajik odaklar ve nekroz, böbrek tübüllerinde parçalanma, haemapoietik dokuda azalma, dalak dokusundaki lenfositlerde sayıca azalma, hemoraji ve lenfoid hücrelerinde lysisin görüldüğünü, solungaç filamentlerinde hiperplasi, hemoraji ve lamellalarda birbirine yapışma, beyin dokusunda hiperemi ile sinir ipliklerinde lysis olduğunu rapor etmişlerdir.

Balint ve ark. (1995), yetişkin sazan balığı (*Cyprinus carpio* L.)'nın farklı dokularında AChE (EC 3.1.1.7) üzerine methidathion (MD) ve deltamethrin (DM) insektisitlerinin in vitro ve in vivo etkilerini çalışmışlar; 3 gün süreli 2 µg/L DM uygulamasında şiddetli bir AChE inhibisyonu olmazken 5 gün süreli 2 mg/L MD in vivo uygulamasında farklı organların AChE aktivitesinde % 70-90 bir azalışa sebep olduğunu bildirmişlerdir.

Keizer ve ark. (1995), *Oncorhynchus mykiss*, *Poecilia reticulata*, *Brachydanio rerio* ve *Cyprinus carpio*'ya diazinonun toksisite farkını açıklamak için hem diazinonun in vitro olarak hepatik metabolizmasını hemde beyin AChE'nin duyarlılığını ve diazoxonun inhibitör hareketini çalışmışlardır. Sazan balığında AChE'nin çok duyarlı olmasına rağmen biyoaktivasyonun çok düşük ve detoksifikasyon enzimlerinin nispeten yüksek aktivitesi nedeniyle sazanın diazinon toksisitesine çok dirençli olduğunu, alabalıkta biyoaktivasyonun düşük olmasına rağmen detoksifikasyon enzimlerinin eksikliği ve AChE'nin çok duyarlı olmasından dolayı diazinona karşı çok duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir. Diazinonun, yüksek biyoaktivasyon oranı ve nispeten duyarlı AChE'nin kombine olduğu *Poecilia reticulata* için çok toksik olduğunu, *Brachydanio rerio*'nun sınırlı bir aktivasyon oranıyla birlikte çok duyarlı AChE'ye sahip olduğunu, elde ettikleri sonuçlara göre balık türleri arasında diazinonun toksisite farklılıklarının karaciğerdeki metabolik dengelerle ve hedef enzimlerin özellikleri ile büyük bir oranda açıklanabileceğini bildirmişlerdir.

Murison ve ark. (1997), ektoparazit krustase *Lepeophtheirus salmonis* ve *Caligus elongatus* ile istila olmuş salmon çiftliklerinde uygulamada OP'li pestisitlerden dichlorvos (DDVP) kullanıldığını, salmonid kafeslerine çok yakın kıyılarda makrofit *Ascophyllum nodosum* ile birlikte omurgasızların toplandığı orta gelgit seviyesinde DDVP kullanımının etkilerini bulmak için arazide araştırma yapmışlardır. Genelde *Ascophyllum nodosum* komünitelerinde fakirleşmenin sebebinin belli olmadığını ve özellikle hedef olmayan krustase popülasyonlarının ektoparazit mücadelesi ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir. *Hyale nilssoni*'de AChE aktivitesinin DDVP konsantrasyonu artışıyla inhibe olmasının ilerlediğini rapor etmişlerdir.

Lundebye ve ark. (1997), *Carcinus maenas*'ın OP'li pestisitlerden dimethoateye maruz bırakmanın ve etkilerinin belirlenmesi için biyomarker olarak biyokimyasal ve fizyolojik tepkilerin kullanma potansiyelini belirlemeye çalışmışlar; buna göre 2 mg/L dimethoate uygulamasından önce ve sonra

Carcinus maenas'dan alınan haemolimpi örneklerinde AChE aktivitesinin seri halinde ölçüldüğünü ve AChE aktivitesinin önemli düzeyde azaldığını bildirmişlerdir.

Gruber ve Munn (1998), tarımsal sulama sularından dolayı, adi sazan (*Cyprinus carpio*)'ın OP'li ve karbamatlı insektisitlere maruz kalmasının değerlendirilmesinde kolinesteraz (ChE) aktivitesinin biyomarker olarak kullanıldığını belirtmişlerdir. OP'li ve karbamatlı insektisitlerin çevrede çabucak parçalanmasına rağmen yıllarca insektisit uygulamalarının yapıldığı tarım alanlarında hedef olmayan akuatik biotanın birkaç aylık sürelerle ChE inhibe eden insektisitlerin yüksek seviyelerine maruz kalabileceğini rapor etmişlerdir.

Santhakumar ve ark. (1999), tarımsal işlerde pestisitlerin rastgele kullanılmasının akuatik çevrenin çok büyük bir bölümünü ters etkilediğini, organik klorlu pestisitlerin biyolojisi ve çevre direncinin olmasından dolayı, kolay bir şekilde biyodegradasyon olan ve dirençsiz OP'lilerin kullanımının genişlemesine yol açtığını, bu durumun balıkların dahil olduğu tatlı su organizmaları için büyük bir tehlike olduğunu belirtmişlerdir. OP'lilerden birisi olan, genellikle azodrin olarak bilinen monocrotophos (fosforik asit dimetil (1-metil-3(metilamin)-3-oxo-nitrofenil) ester)'un Hindistan'da tarımsal zararlı böceklerin kontrolü için yaygın olarak kullanıldığını bildirmişlerdir. Balıkların fizyolojisi üzerine pestisitlerin subletal konsantrasyonlarının neden olduğu, zor fark edilen, öldürmeyen etkilerin belirlenmesi için belirli klinik parametrelerin izlenmesinin gerekli olduğunu rapor etmişlerdir. Subletal stresin göstergesi olarak hematolojik metotların kullanımının, değişen bir çevrede balığın fizyolojik reaksiyonu ile ilgili değerli bilgileri sağlayabileceğini, balık kanının fiziksel ve kimyasal özelliklerinin çevresel değişikliklere çok duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Monocrotophosun, *Anabas testudineus*'un eritropoietik aktivitesi ve hematolojisi üzerine subletal konsantrasyonlarının değerlendirmesini çalışmışlardır.

Sturm ve ark. (2000), *Gasterosteus aculeatus* balığının beyin ve kas dokusundan farklı kolinesterazların, OP'li insektisitlerin biyo izlenmesinde kullanım potansiyellerini araştırmışlardır. *Gasterosteus aculeatus*'un beyninin AChE içerdiği, butirilkolinesteraz (BChE) içermediğini, kas dokusunun hem AChE ve hem de BChE içerdiğini, in vitro olarak organik fosforlu pestisitlerden paraoxon ve dichlorvosa kas BChE'nin beyin ve kas AChE'den çok daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

Lund ve ark. (2000), yaygın olarak uygulanan tarımsal kimyasallardan olan OP'li insektisitlerin sinir sistemi enzimi olan AChE'yi inhibe ederek toksisite oluşturduğunu belirtmişlerdir. *Palaemonetes pugio*'nun embriyolarını OP'li chlorpyrifos ve malathiona 24 saat süreyle maruz bırakmışlardır. AChE aktivitesinin ölçülebilir seviyelerinin ilk olarak gelişimin 5. safhasında görüldüğünü, embriyonik gelişim işlemlerinin arttığını, OP'nin etkisiyle AChE inhibisyonunun embriyonun 6 ve 7. safhalarında belirlendiğini, embriyonun bu safhalarının chlorpyrifosa malathiondan çok daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

Dembele ve ark. (2000), adi sazan, *Cyprinus carpio*'nun beyin AChE aktivitesi üzerine, OP'li pestisitlerden chlorfenvinphos, chlorpyrifos, diazinon ve karbamatlı pestisitlerden carbofuranın in vivo olarak maruz bırakma etkisini, in vitro olarak konsantrasyon-tepkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada, 1 yaşındaki sazan balıklarının insektisitlerin farklı konsantrasyonlarına 96 saat süreyle maruz bırakıldığını, pestisitlere maruz bırakılan balıkların beyinde ölçülen AChE aktivitesinin kontrol grubu beyin AChE aktivitesi ile istatistiki olarak önemli bir fark olmamasına rağmen, carbofuran (2.44 mg/L), chlorfenvinphos (2.9 mg/L) ve diazinon (2.5 mg/L)'un en yüksek konsantrasyonlarında maruz bırakmadan 4 saat sonra test balıklarının tamamının öldüğünü tespit etmişlerdir. Maruz bırakmadan 96 saat sonra beyin AChE inhibisyonunun en düşük konsantrasyonda önemli olduğunu, chlorfenvinphosun in vivo olarak çok etkili inhibitör olduğunu, chlorpyrifosun maruz bırakmadan 96 saat sonra daha düşük bir AChE inhibitörü

olarak görüldüğünü, biyo izleme programlarında sazan beyin AChE aktivitesinin, kronik olarak OP'li ve karbamatlı kirliliğin teşhisinde iyi bir vasıta olacağını bildirmişlerdir.

Wogram ve ark. (2001), OP'li insektisitlerden parathion-ethyl tarafından inhibe edilen BChE duyarlılığının *Gasterosteus aculeatus* balığında diğer esterazlar ile karşılaştırmasını çalışmışlardır. Çevresel duruma uygun koşullarda in vivo olarak kısa süreli (1 saat) maruz bırakma şeklinde *Gasterosteus aculeatus* balığının parathionun 0.01, 0.1 ve 1.0 µg/L konsantrasyonlarına maruz bırakıldığını, 1 saat sonra iyileştirme amacıyla balıkları 48 saatliğine temiz suya bırakıldığını, parathionun metabolik aktivitesine izin verildiğini rapor etmişlerdir. İyileşme sürecini takiben kas, solungaç ve karaciğer BChE aktivitesi, beyin, kas ve solungaç AChE aktivitesini ve karaciğer karboksilasteraz (CaE) aktivitesini belirlediklerini, 1.0 µg/L parathion uygulamasını takiben BChE aktivitesinin solungaçta % 30 azalışla önemsiz olmasına karşın karaciğerde % 60, kasta % 30 azalışla önemli olduğunu, 0.01, 0.1 µg/L parathionun BChE aktivitesi üzerinde hiçbir etkinin gözlenmediğini, AChE ve CaE aktivitelerinin parathionun tüm konsantrasyonlarında etkilenmeden kaldığını bildirmişlerdir.

Chuiko ve ark. (2002), OP'li O,O-dimetil-O-(2,2-diklorovinil) fosfat (DDVP) ve tetraizopropilamidopirofosfat (iso-OMPA)'ın kıızılgöz, *Rutilus rutilus*'un AChE ve BChE inhibisyonlarının derecelerini çalışmışlar ve balık dokusunda AChE ve BChE aktivitelerinin değerlendirilmesinde ayırım için yeni seçilmiş bir inhibitör olarak DDVP'nin kullanılabilirliğini tespit etmişlerdir.

Luskova ve ark. (2002), diazinon [O,O-dietil-O-(2-izopropil-6-metilpirimidin-4il) fosforotiyoat]'un adi sazan üzerine etkisini tespit etmek için kontrol grubu ve Basudin 600 EW (toksik madde olarak 600 g/L diazinon içerir) pestisitinin etkisine maruz bırakılan grubun biyokimyasal kan plazma profillerini değerlendirmişlerdir. Seçilmiş enzimlerin aktivitesi, metabolit konsantrasyonlar ve elektrolitler, kontrolün 2 yaşlı 15 örneğinde, Basudin 600 EW'nin 32.5 mg/L konsantrasyonunun etkileri için 96 saat maruz bırakılan 2 yaşlı 16 örnekte

ölçülmüş, kontrol grupları ile karşılaştırıldığında kolinesterazın ($p<0.01$) ve laktat dehidrogenazın ($p<0.05$) deneme gruplarında önemli bir şekilde azaldığını, biyokimyasal kan plazma profilinin deney sonuçlarının balıklarda diazinonun göze çarpan neurotoksik etkilerini gösterdiğini bildirmişlerdir.

Beauvais ve ark. (2002), OP'li insektisitlerin ürün zararlılarını kontrol etmek için yaygın kullanıldığını ve tarımsal alanların sulanması sonrası pestisitlerle kontamine suların akarak akuatik sistemlere girdiğini, akuatik organizmalar için yüksek toksisiteye sahip olduğunu ve izlenmesi gerektiğini ancak pek çok OP'linin düşük direncine rağmen bunun henüz zor olduğunu bildirmişlerdir. ChE inhibisyonunun OP'li ve karbamatlı pestisitlere maruz kalan organizmaları izlemede kullanılabileceğini, ChE aktivitesindeki yüksek değişkenlikten dolayı OP'li pestisitlere maruz kalmayı belirlemede deneylerin yapılabilirliğini engelleyebileceğini rapor etmişlerdir. ChE aktivitesindeki varyasyonun, su sıcaklığı, örneklerin depolanması, ötenazi metodu, balık cinsiyeti ve büyüklüğünün içinde bulunduğu potansiyel kaynaklarını *Lepomis macrochirus* balığında araştırmışlardır. ChE aktivitesinin, 20-31 °C aralığındaki su sıcaklığı ile veya 4 ve 19 °C'de 8 saat süreyle, ötenazi edilmiş *Lepomis macrochirus*'un kısa süreli depolanmasını takiben veya -198 °C'de 389 günde, homojenize edilmiş beyin uzun süre depolanmasında önemli olarak değişmediğini bildirmişlerdir.

De Silva ve Samayawardhena (2002), tatlı su balıkları ve akuatik omurgasızlar için çok yüksek toksik olan, geniş spektrumlu OP'li bir bileşik olan chlorpyrifosun (O,O-dietil-O (3,5,6-triklor-2-piridil) fosforotiyoat) (lorsban) lepistes (*Poecilla reticulata*) balığı üzerine akut toksisitesi ve subakut toksik etkilerini farklı konsantrasyonlarda çalışmış; juvenil lepistesler için lorsbanın akut toksisitesinin 26±1°C'de 96 saat LC₅₀ 7.17 µg/L olduğunu, lorsbanın düşük konsantrasyonlarına maruz bırakılan balıklarda yüzme davranışında değişikliklerin görüldüğünü, balıklarda şekil bozukluğunun daha yüksek konsantrasyonlara maruz bırakılanlarda fazla oluştuğu ancak bu durumun bütün uygulama gruplarında genel olduğunu, solungaç histolojisinde, sekonder

lamellalarında kısıalma ve kayıplarla birlikte birkaç patolojik değişikliğin görüldüğünü bildirmişlerdir. Net bir şekilde belirlenen davranışsal, morfolojik ve histolojik etkiler, chlorpyrifosun düşük konsantrasyonlarının, lepistesin erken yaşam safhaları üzerine yüksek zararlı olabileceğini rapor etmişlerdir.

Roex ve ark. (2003), AChE inhibisyonunun, OP'li pestisitlere maruz kalmanın iyi bir biyomarkeri olarak yaygın bir şekilde kabul edildiğini, bununla birlikte organizmalar üzerinde büyüme, üreme ve hayatta kalma sonuçları ve AChE inhibisyonu arasındaki ilişki hakkında bilgilerin az olduğunu rapor etmişlerdir. Balıklarla yapılan akut toksisite testlerinin, zararlı etkilerinin ortaya çıkması için gerekli olan AChE inhibisyonunun büyük bir yüzdesini gösterdiğini, ancak AChE aktivitesi ve biyolojik organizasyonların daha yüksek seviyeleri için OP'li kimyasallara kronik maruz kalmanın sonuçları hakkında fazla bilgi olmadığını ifade etmişlerdir. *Danio rerio* balığını 250 gün süreyle, akışlı sistemde, OP'li parathionun subletal konsantrasyonlarına maruz bırakarak, AChE aktivitesi, tüm vücut protein ve laktat içeriğini ölçmüşler, besin tüketim oranını, hayatta kalma oranını, büyüme ve üreme etkilerini belirlemişlerdir. AChE inhibisyonunun maruz kalınan konsantrasyonlarla ilişkili olduğunu ancak maruz kalma süresiyle ilişkili olmadığını, AChE aktivitesinin, maruz kalmadan 144 gün sonra 0.9 µg/L'nin üzerinde, 250 gün sonra ise 4.3 µg/L olarak tespit etmişlerdir. Parathion ve çözücü (dimetil sülfoksit, DMSO) uygulanan balıklarda yem tüketim oranının önemli ölçüde arttığını, protein içeriğinde önemsiz etkiler görülürken hayatta kalma, büyüme, üreme ve laktat içeriğinin etkilenmediğini bildirmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre balıkların OP'li pestisitlere maruz kalması durumunda, AChE'nin çok duyarlı bir biyomarker olduğunu ancak uzun süreli maruz kalmayı takiben oluşan ters etkilerin daha yüksek seviyede doğru olarak tahmin edilemediğini rapor etmişlerdir.

Atamanalp ve Yanık (2003), hematolojik parametrelerin, yaygın olarak ölçülen diğer parametrelerden daha çabuk olarak balığın sağlık durumunun zayıflığı hakkında bilgi verdiği ve çevresel şartlardaki değişikliklere çabucak

tepki gösterdiğinden, balığın sağlığını tanımlamak, stres tepkilerini izlemek, hayvanların fizyolojik adaptasyonları ve sistematik ilişkilerini tahminlemek için yaygın olarak kullanıldığını belirtmişlerdir.

Singh ve ark. (2004), güney-doğu Asya'nın yaygın bir tatlı su balığı olan ve bu sularda sivrisinek larvalarının biyolojik kontrolü için yoğun olarak kullanılan, özellikle kasabalarda fakir insanlar tarafından yenen *Colisa fasciatus*'a malathion ve karbaril pestisitlerinin toksisitesini çalışmışlardır. Buna göre; her iki pestisit *Colisa fasciatus* için zehirli, toksik olduğunu ve subletal dozlarının balığın glikojen, piruvat, laktat ve total protein seviyelerini önemli bir şekilde değiştirdiğini, besin değeri olmayan balığın insan tüketimi için iyi olmadığını bildirmişlerdir.

Wheelock ve ark. (2005), AChE aktivitesinin OP'li ve karbamatlı pestisitlere maruz kalmanın bir biyomarkeri olarak izlenmesinin gelenekselleştiğini, AChE aktivitesinin bu agrokimyasallar için çok duyarlı bitim noktası olmayabileceğini, OP'lilerin AChE aktivitesini etkilemeyen konsantrasyonlarda ters fizyolojik etkilere sebep olabileceğini rapor etmişlerdir. Enzim ailesiyle ilişkili olan karboksilesterazın bazı OP'liler ve karbamatlılar için AChE'den daha yüksek afiniteye sahip olduğunu ve bu pestisitlere maruz kalmış çevrenin çok duyarlı indikatörü olabileceğini bildirmişlerdir. Juvenil *Oncorhynchus tshawytscha* balıklarını OP'li chlorpyrifosa maruz bırakarak karboksilesteraz ve AChE aktivitelerini ölçmüşlerdir. Chlorpyrifosun yüksek dozunda (7.3 µg/L) AChE inhibisyonu beyin (% 85) ve kas (% 92) dokusunda önemli bulunduğunu, düşük dozda (1.2 µg/L) ise önemsiz olduğunu tespit etmişlerdir.

Chang ve ark. (2006), *Macrobrachium rosenbergii*'yi trichlorfonun 0, 0.2, 0.4 mg/l konsantrasyonlarına 24 saat süreyle maruz bırakarak toksisitesini belirlemeye çalışmışlar, AChE aktivitesini ölçmüşlerdir. Buna göre; 24, 48, 72 ve 96 saat LC₅₀ değerini sırasıyla 0.7739, 0.3513, 0.2697 ve 0.2555 mg/L olarak belirlemişlerdir. 0.4 mg/L trichlorfon grubunda hemolenf ve hepatopankreasın

AChE aktivitesinin azaldığını tespit etmişlerdir. *Macrobrachium rosenbergii* solungaçlarında hemoselik boşlukta hemositik infiltrasyon, lamellanın şiştiğini, eridiğini ve nekrotik, hiperplastik ve ucu kalınlaşmış lamellaların olduğunu gözlemlemişlerdir.

John (2007), pestisitlerin gelişi güzel kullanılmasının çevre ve akuatik habitatın kontamine olma riskini artırdığını belirtmiştir. Metasystox (4 ppm) ve sevin (7 ppm)'in subletal konsantrasyonlarına tatlı su kemikli balığı *Mystus vittatus*'un kronik maruz bırakılması sonrası balıklardan alınan kanda bazı parametrelerin değişimini çalışmış; buna göre, pıhtılaşma zamanı (CT), eritrosit sedimentasyon oranı (ESR), hemoglobin %'si (Hb %), kırmızı kan hücresi (RBC), beyaz kan hücresi (WBC), paket hücre hacmi (PCV), ortalama eritrosit hacmi (MCV), eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı (MCH) ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) gibi belirli hematolojik parametrelerde temel değişimlerin gözlendiğini rapor etmiştir. Farklı kan parametrelerinde, stres durumu ve diğer çeşitli çevresel faktörlere bağlı olarak sıklıkla değişiklikler meydana geldiğini, balığın kanında belirlenen ortalama eritrosit hacmi ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonundaki değişikliklerin balık dokularındaki patolojik bir duruma yol açan kimyasal bir stresin altında olduğunu açık bir göstergesi olduğunu, OP'li ve karbamatlı pestisitlerin, maruz bırakılan balıklarda tüm yaşam aktivitelerinin bozulmasına yol açtığını bildirmiştir. Ayrıca bu çalışmada, glikoz, kan üre, total plazma protein ve kolesterol gibi kanın organik bileşenlerinin ve kalsiyum, demir, magnezyum ve fosfor gibi inorganik bileşenlerinin değiştiğini bildirmiştir. Kanın biyokimyasındaki değişimlerin pestisit stresi nedeniyle oluşabileceğini ifade etmiştir. Her iki pestisitte de CT, WBC, MCH, MCHC, glikoz, kan üre, kolesterol ve magnezyumun arttığını, diğer parametrelerin azaldığını belirlemiştir.

Attademo ve ark. (2007), pirinç tarlalarından, çevresindeki ortamlardan ve bozulmamış referans bir ormandan alınan *Chaunus schneideri*'nin plazmasında B-esteraz (BChE ve karboksilesteraz (CbE)) aktivitesini ölçmüşlerdir. BChE

aktivitesinin in vitro olarak yeniden aktive edilmesi piridin-2-aldoksim metaklorid (2-PAM) kullanılarak yapıldığını, tarım alanlarından alınan *Chaunus schneideri* örneklerinin plazma BChE ve CbE aktivite ortalama değerlerinin bozulmamış ormanlardan alınan örnek değerlerinden farklı olduğunu, 2 tarım alanından alınan plazma örneklerinin 2-PAM ile inkübasyonu sonrası BChE aktivitesinin yeniden aktivite edilmesinin pozitif olduğunu, B-esterazın doğal hayatın pestisitlere maruz kalmasının sahada izlenecek bir biyoindikatörü olarak kullanılabilceğini, 2-PAM kullanılarak uygulanan analiz yönteminin tahrip edici olmadığını ve anti-ChE agrokimyasallara duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

2.4. Testlerde Kullanılan Terimler ve Parametreler

Akut ve kronik denemelerde kullanılan terim ve parametrelerin tanımları aşağıda verilmiştir (Alabaster ve Lloyd, 1982; Anonim, 1995; Ünsal, 1998; Çetinkaya, 2005).

% 95 Güven sınırları: % 95 güven aralığının üst ve alt sınırları. % 95'lik olasılık seviyesinde (test edilen) balık popülasyonu için gerçek LC_{50} değeri bu sınırlar arasında yer alır. Böylece, eğer tek bir büyük popülasyondan ayrı balık örnekleri üzerinde test yapılmışsa, her bir test örneği için belirlenen LC_{50} değeri ve bunun % 95'lik güven sınırları yapılan her 100 testten 95'inde LC_{50} 'nin bu aralıkta olacağını ifade eder.

Aklımasyon-alıştırma: Balıkta herhangi bir yan tesir oluşturmaksızın farklı bir stimulus görülmeden balığın, bazı seçilmiş deneysel koşullara fizyolojik olarak adapte edilmesidir.

Akut toksisite testi: Bir maddenin, canlıyı kısa bir zaman periyodunda (saatler ve günler içinde) maruz bırakması ile ortaya çıkan zararlı etkilerin incelendiği ve sayısal değerlendirmelerin yapıldığı test.

Aplikasyon (uygulama) faktörü (güvenli konsantrasyon): Kısa süreli denemelerde bazı zararlı etkileri gözlemlenen konsantrasyonun, çevrede kabaca kabul edilebilir olarak nitelenen bir seviyeye dönüştürülebilmesi için kullanılan

bir faktördür. Bu faktör LC_{50} değerinin genellikle 0.1-0.01 ile çarpılmasıyla elde edilir. Bu çalışmada 0.01 ile çarpıldı.

Akut kronik oranı (ACR): Uygulama faktörünün tersi olan orandır.

Medyan etkili konsantrasyon (EC_{50}): Test balıklarının yarısında belirlenmiş etkiler (denge kaybı, yüzme bozukluğu, solunum bozukluğu vs.) oluşturan konsantrasyon.

Etkili konsantrasyon (EC): Belirlenmiş bir süre sonunda deney balıklarında denge kaybı, şekil bozukluğu, felç, solunum bozukluğu, davranış anormallikleri gibi tanımlanabilen değişiklikler meydana getiren konsantrasyondur (fertlerin sayısı önemli değil, bir tek fertle bile olabilir).

Etkisi gözlenen en düşük konsantrasyon (LOEC): Bir subletal (kronik) testte kontrolle kıyaslandığında istatistiksel olarak önemli bir yan etkisi gözlenen en düşük konsantrasyon.

Etkisi gözlenmeyen konsantrasyon (NOEC): Bir subletal testte kontrolle kıyaslandığında istatistiksel olarak önemli bir yan etkisi gözlenmeyen en yüksek konsantrasyondur. Bu değer LOEC'nin hemen altındaki konsantrasyondur.

İlk tepki zamanı: Balığın bir zehir konsantrasyonuna veya diğer stimullara maruz bırakılmaya başlandığı zaman ile ilk reaksiyonun görülmesi arasında geçen süre.

İlk tepki: Deneyde kullanılan toksik maddenin, deney organizmalarında, maruz kalmayı takiben meydana getirdiği ölçülebilen, belirlenebilen ilk biyolojik etkisidir. Bunlar; denge kaybı, davranış anormallikleri, solunum bozukluğu, şekil bozukluğu, felç vb olabilir.

Kaçınma reaksiyonu: Bir balığın aktif olarak uygun olmayan bir stimulanstan kaçma, uzaklaşma reaksiyonu, hareketi.

Konsantrasyon-tepki eğrisi: Belirli bir temas periyodundan sonra farklı konsantrasyonlarda zehirlere maruz kalmış balık gruplarının farklı yüzdelerdeki tepkilerinin bu konsantrasyonlara karşı çizilmiş grafik eğrisi.

Kronik toksisite testi: Toksik maddelerin, uzun sürede (hafta, ay, yıl) ortaya çıkan, doğal ortamda olması kuvvetle muhtemel etkilerini yakalayabilmek ve somutlaştırabilmek için yapılan denemelerdir.

Medyan letal konsantrasyon (LC₅₀): Test balıklarının yarısının ölümüne yol açan toksik madde konsantrasyonu.

Letal konsantrasyon (LC): Bir zehrin, balığa zehirli olduğu ve ölüme yol açtığı en düşük konsantrasyon.

Letal süre (LT): Deney balıklarından belirli bir miktarının (en az biri) ölümü için geçen süredir.

Medyan letal zaman (LT₅₀): Bir zehrin belirli bir konsantrasyonda test populasyonunun yarısının hayatta kaldığı zaman süresi.

Maksimum kabul edilebilir toksikant konsantrasyonu (MATC): Üreme, büyüme ve yaşam üzerinde önemli bir etki göstermeyen en yüksek toksik madde konsantrasyonudur.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. İnci kefali (deneme materyali balık)

İnci kefali (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811), Van Gölü havzasında yaşayan endemik bir *Cyprinidae* familyası türüdür. Omnivor tür olan balık, ağırlıklı olarak zooplankton ve bentik fauna ile beslenir. Van Gölü popülasyonu, beslenmesini gölde, üremesini ise göle dökülen akarsularda Mayıs-Haziran ayları arasında gerçekleştirir. Gölde yaşayan tek balık türü olan inci kefali bölge için ekonomik öneme sahiptir. Bölgede “Van Balığı” adıyla bilinir (Akgül, 1980; Çetinkaya ve Öksüz, 1996; Sarı, 1997; Sarı ve Arabacı, 1997; Kocabaş, 1999; Elp ve Çetinkaya, 2000) (Şekil 3.1). Yıllık avlanma miktarı 12,000 tondur (Anonim, 2008a).

Çalışmada kullanılan balıklar, doğal ortamdan, Van Gölü’ne dökülen Karasu çayından, serpmeye ve elektroşok ile yakalanarak (Şekil 3.2), oksijen destekli kaplarla Yüzüncü Yıl Üniversitesi (YYÜ) Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü Su Ürünleri Uygulama ve Araştırma Tesisine getirildi. Balıklar, dinlenmiş su içeren 260x80x70 cm boyutlarındaki fiberglas tanklara uygun yoğunlukta bırakıldı. Balıklara bu ortamda, alabalık pelet yemi verildi ve ortama alışmaları için yaklaşık 1.5 ay bakıldı.



Şekil 3.1. Denemelerde kullanılan inci kefali (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811)

3.1.2. Deneme ortamı

Denemeler, Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü Toksikoloji Laboratuvarı'nda yapıldı. Denemelerde 60x30x40 cm ebatlarındaki cam akvaryumlar kullanıldı. Akvaryumların etrafı, gözlem sırasında balıkların strese girmemesi için, koyu renkli kağıtla kapatıldı (Şekil 3.3). Denemelerde dinlendirilmiş çeşme suyu kullanıldı. Kullanılan suyun, denemelere başlamadan önce, deneme süresince her gün sabah ve akşam, sıcaklık (°C), çözünmüş oksijen (mg/L), pH ve elektriksel iletkenliği (EC) ($\mu\text{mhos/cm}$) değerleri ölçüldü. Ölçülen elektriksel iletkenlik değerleri, EC_{25} ($\mu\text{mhos/cm}$) = $K_m / 1 + 0.019 (t - 25)$ formülü kullanılarak yapılan hesaplamayla 25 °C'ye standardize edildi.

Burada: EC_{25} 25 °C'deki elektriksel iletkenlik; K_m cihazla ölçülen elektriksel iletkenliği; t cihazla ölçülen sıcaklıktır. Ayrıca suyun çözünmüş oksijen satürasyonu (ÇOS) (%), çözünmüş oksijen satürasyonu = $[\text{ölçülen } \text{ÇO} (\text{mg/L}) / \text{çözünürlük değeri mg/L}] \times 100 \times \text{yükseklik düzeltme faktörü}$ (1.24) formülüne göre hesaplandı (Egemen, 2005).

Çözünürlük değeri: Deneme suyunun ölçülen sıcaklık değerlerine göre, 1-22 °C arasında ve 680-770 mm Hg atmosferik basınçta değişik yüksekliklerdeki

oksijenin sudaki çözünürlüğü (mg/L) tablosundan yararlanarak bulundu (Egemen, 2005).

Yükseklik düzeltme faktörü: Çeşitli yüksekliklerde oksijen satürasyonunu gösteren düzeltme faktörü tablosundan yararlanılarak ve Van için 1,700 m rakım kabul edilerek 1.24 alındı (Egemen, 2005).

Denemelere başlamadan önce deneme suyunun analizi yapılarak, CaCO_3 eşdeğeri olarak total sertlik (mg/L) ve total alkalinite (mg/L) değerleri belirlendi.

Denemeler süresince hava motorlarıyla akvaryumların suyu havalandırıldı. Denemeler 17.5 ± 1 °C ve doğal fotoperiyotta yapıldı.



Şekil 3.2. Denemede kullanılan balıkların doğal ortamdan yakalanması

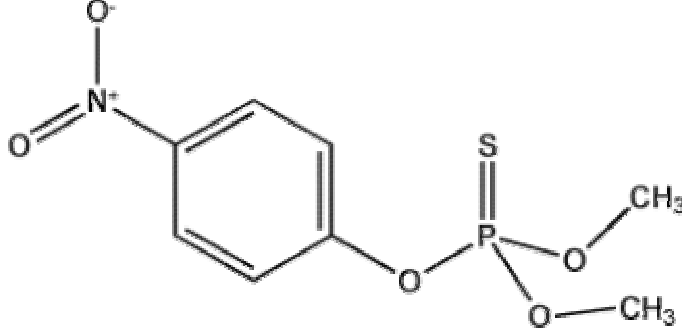


Şekil 3.3. Denemelerin yapıldığı ortamdan bir görünüş

3.1.3. Denemelerde kullanılan kimyasallar

Denemelerde, teknik konsantrasyon (% 80) MP, tarım ilaçları ithalat, üretim ve satışı yapan bir şirketten temin edilmiştir. MP, kontak, mide ve solunum zehiri olan ve sistemik olmayan OP'li insektisit ve akarisitir. Öncelikli olarak pamuk, meyve, sebze, süs bitkisi, tahıl, yağlı tohumlar, yem bitkilerinin öz suyunu emerek ve dokuyu çiğneyerek zarar veren böceklerin kontrolünde kullanılır. Akut toksisite aralığı yüksek toksik, balıklar için ortalama akut toksisitesi orta olarak sınıflandırılır. MP toksisitesi, Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Kurumu (USEPA) tarafından yüksek toksik bir insektisit olarak sınıflandırılmıştır. MP, toz, emulsifiye konsantrasyon, ultra küçük hacim (ULV) sıvı, sulu kapsül süspansiyon ve ıslanabilir toz formülasyonlarında bulunur. Saf MP, çürük yumurta ya da sarımsak kokusu ile karakterize beyaz renkli kristaller halinde katı bir maddedir. % 80 saflıkta teknik konsantrasyon hafif koyu sarımsı kahverengi renktedir. MP'nin kimyasal adı O,O-dimetil O-4-nitrofenil fosfotiyat'dır. Formülü,

$C_8H_{10}NO_5PS$, molekül ağırlığı 263.2045 g, özgül ağırlığı 20 °C'de 1.358 g/mL olan MP'nin molekül yapısı Şekil 3.4'de gösterilmiştir (Anonim, 1994; Anonim, 1996; Anonim, 2001; Anonim, 2007).



Şekil 3.4. Metil parationun molekül yapısı (Anonim, 2007'den)

Suda az miktarda (20 °C'de 55-60 mg/L), diklormetan, 2-propanol, toluen, heksan ve pek çok organik çözücüde ise iyi çözünür. Erime noktası 35-36 °C, kaynama noktası 0.05 mm Hg'de 143°C, 20 °C'de buhar basıncı 0.97×10^{-5} mm Hg ve oktanol/su parçalanma katsayısı 25 ± 1 °C'de $\log P_{ow} = 2.8$ 'dir. MP çok değişik ticari isimler altında satılmaktadır. Hidroliz özellikleri; 4 mg/L birinci konsantrasyonda, steril koşullarda, karanlıkta, yarılanma ömrü 25 °C'de pH 5'te 68 gün, pH 7'de 40 gün, pH 9'da 33 gündür. Hidroliz ürünleri, asitli ortamda desmetil parathion-metil, alkali ortamda 4-nitrofenol'dur. Nötral koşullarda yaklaşık her iki ürünün eşit miktarları şekillenir. Fotoliz özellikleri; 40 derece enlemde bulutsuz havada ve suyun üst tabakasında çevresel yarılanma ömrü 9 gündür. MP deniz suyu, göl ve akarsularda hızla yıkıma uğrayarak 2-4 hafta içinde % 100'ü parçalanabilmektedir. Yıkım sedimentte sudan ve tatlı suda ise deniz suyundan daha hızlı gerçekleşir. Sudaki MP fotolize maruz kalarak bozunur, yarılanma ömrü yazın 8, kışın 38 gün olarak belirlenmiştir (Anonim, 1994; Anonim, 1996; Anonim, 2001; Anonim, 2007; Yıldırım, 2000). MP'nin fotokatalitik parçalanması sonucu oluşan ara reaksiyon ürünleri; metil paraoxon (MPO), 4-nitrofenol (NP), 4-benzentriol (BT), 4-nitroanisol (NA), hidrokinon (HQ), alifatik asit (AA), fenol (PH)'dur (Moctezuma ve ark., 2007). Diğer organik

fosforlu ilaçlar gibi MP'de AChE aktivitesini inhibe eder. Bu enzimin inhibisyonu, sinir impulslarının iletimini engelleyerek sinir sistemi fonksiyonlarını bozmaktadır (Kabeer ve ark., 1980; Huang ve ark., 1997; Sancho ve ark., 2000; Bretau ve ark., 2000; de la Torre ve ark., 2002; Chuiko ve ark., 2003; Lionetto ve ark., 2003).

Denemelerde kullanılan MP, Van Tarım İl Müdürlüğü pestisit kullanımı kayıtları ve ildeki tarım ilaç satıcıları ile yapılan görüşmeler sonucunda, Van Gölü havzasında yaygın olarak kullanılan pestisitler arasında yer aldığı için seçilmiştir.

Dimetil sulfoksit (DMSO): $(CH_3)_2SO$, kokusuz, su beyazlığında, biyolojik olarak parçalanabilir ve toksik olmayan bir çözücüdür. Çok fazla kullanım alanı olan, etkili, organik ve inorganik maddelerin çok geniş bir aralığında çözücü olarak kullanılır. Alkol, eter, klorlu çözücüler ve aromatikler gibi çok yaygın organik çözücülerle karışabilir. Çok yüksek su çözünürlüğü ve aktif çözgenliği ile DMSO, küçük bir viskoziteye sahiptir. Tarım pestisitleri için çözücüdür. Molekül ağırlığı 78 g/mol, kaynama noktası 760 mm Hg'da 189 °C, donma noktası 18.5 °C, özgül ağırlığı 1.101 20/4, sudaki çözünürlüğü 25 °C'de tamamı, DMSO'da suyun çözünürlüğü 25 °C'de tamamı, \log_{10} oktanol/su katsayısı -2.03 ve buhar basıncı 20 °C mm Hg'de 0.42'dir. Balık 96 saat LC_{50} 35,200-50,600 mg/L, biyodegradasyonu 27 gün sonra % 94'dür (Anonim, 2008b).

3.2. Yöntem

Akut ve kronik denemelerde kullanılan balıkların boy ve ağırlık olarak homojen olmasına dikkat edilmiştir. Denemelerde, tanklardaki stoktan boyları 8-10 cm arasında, ortalama 8.4 cm ve ağırlıkları 3-7 g arasında, ortalama 5.5 g olan balıklar kullanıldı. Balıkların sağlıklı, herhangi bir vücut deformasyonuna uğramamış bireyler olmalarına dikkat edilmiştir. Her iki denemede, içerisinde 40 L su bulunan akvaryumlara konulan balıkların stok yoğunluğunun ortalama 1.0 g/L'yi geçmemesine dikkat edildi (Anonim, 1995; Ünsal, 1998; Çetinkaya, 2005).

3.2.1. Akut deneme

3.2.1.1. Akut toksisite denemesi için konsantrasyon belirleme (tarama) testi

Tarama testinde 40 L su içeren 5 ayrı akvaryum kullanıldı. Akvaryumlara 5'er balık bırakılarak, deneme öncesinde ortama alışmaları için 7 gün beklendi. Akut toksisite denemesinde kullanılacak MP konsantrasyonlarını belirlemek için tarama testi yapıldı. Bunun için teste alınan balıkların belli bir süre içerisinde ölüp ölmeme durumlarına göre konsantrasyon belirlendi. Balıklara uygulanan MP, DMSO içinde çözüldü (Anonim, 1995; Ünsal, 1998; Çetinkaya, 2005).

Tarama testinde balıklara 5, 15 ve 20 mg/L konsantrasyonlarda MP uygulanırken (Macek ve McAllister, 1970; Nagaratnamma ve Ramamurthi, 1981), hiçbir madde uygulanmayan ve 35 mL (çözücü olarak kullanılan en yüksek miktar) DMSO uygulanan kontrol grupları hazırlandı. Statik test yöntemine göre hazırlanan deneme, 24 saat boyunca saatte bir kontrol edilerek balıkların ölüm ve yaşam durumu kaydedildi (Anonim, 1995; Ünsal, 1998; Çetinkaya, 2005).

3.2.1.2. Akut toksisite denemesi

Denemeye başlamadan önce stoktan alınan balıklar her bir akvaryuma şansa bağlı olarak 10'ar adet konuldu ve akvaryum ortamına alışmaları için 7 gün bekletildi. Her gün bakım ve beslemesi yapılan balıkların beslenmesi, denemenin başlamasından iki gün önce kesildi ve deneme boyunca beslenmedi (Anonim, 1995; Ünsal, 1998).

Tarama testi sonuçlarından yararlanılarak akut toksisite denemesinde 0.00 mg/L (kontrol), 6.45 mg/L, 7.17 mg/L, 7.97 mg/L, 8.86 mg/L, 9.84 mg/L, 10.94 mg/L, 12.15 mg/L, 13.50 mg/L, 15.00 mg/L olmak üzere, kontrollerle birlikte 10 konsantrasyon uygulandı. Konsantrasyon aralığı logaritmik oranda değişecek şekilde belirlendi. Deneme, kontroller dahil iki tekerrürlü yapıldı. Kontrol grubunda, birinci tekerrür akvaryuma hiçbir madde uygulanmazken, ikinci tekerrürün bulunduğu akvaryuma 35 mL MP çözücüsü olarak kullanılan DMSO uygulandı (Anonim, 1995; Ünsal, 1998).

Uygulanan konsantrasyonlar, % 80 saflıktaki MP'den direkt olarak, her konsantrasyon için hesaplanan miktarlarda hazırlandı. Örneğin, 6.45 mg/L için: $1\mu\text{L}'de\ 1.358\ \text{mg}\ (\text{özgül ağırlık}) \times 0.8\ (\text{MP'nin saflığı}) = 1.0864\ \text{mg}\ \text{MP}$ mevcuttur. $6.45/1.0864 = 5.937\ \mu\text{L}$, 40 L (akvaryumların su hacmi) $\times 5.937 = 237\ \mu\text{L}\ \text{MP}$ kullanıldı. Benzer hesaplama diğer konsantrasyonlar için de yapıldı. 7.17 mg/L için 264 μL , 7.97 mg/L için 293 μL , 8.86 mg/L için 326 μL , 9.84 mg/L için 362 μL , 10.94 mg/L için 402 μL , 12.15 mg/L için 447 μL , 13.50 mg/L için 497 μL ve 15.00 mg/L için 552 $\mu\text{L}\ \text{MP}$ kullanıldı. Her bir konsantrasyon için alınan bu miktarlar 35 mL DMSO içerisinde iyice çözüldükten sonra akvaryumlara ilave edilip iyice karıştırıldı (Anonim, 1995; Ünsal, 1998).

Konsantrasyonlar, deneme ortamına şansa bağlı olarak yerleştirilen akvaryumlara yine şansa bağlı olarak uygulandı. Deneme 96 saat devam ettirildi. Balıkların durumları deneme başlangıcında saatte bir daha sonra 6 saatte bir gözlemlendi. Gözlem sırasında balıkların genel durumları, ilk tepki zamanı ve ölen balıkların sayıları ve ölüm zamanı kaydedildi. Ölen balıklar ortamdan alındı, tartıldı, boyları ölçüldü ve daha sonra balıklar yakılarak imha edildi (Anonim, 1995; Ünsal, 1998).

3.2.2. Kronik toksisite denemesi

Kronik toksisite denemesi için yarı statik test yöntemine göre deneme düzeneği hazırlandı. Denemede kullanılan MP konsantrasyonu, akut toksisite testi sonuçlarına göre hesaplanan 96 saat LC_{50} değerinin 1/4'ü dikkate alınarak belirlenen 3.00 mg/L konsantrasyonu ve konsantrasyon aralığı logaritmik değişecek şekilde bu değer 2 alt (1.47 mg/L ve 2.10 mg/L) ve 2 üst (4.28 mg/L ve 6.11 mg/L) konsantrasyonları ile 0.00 mg/L (kontrol) ve 35 mL/40 L DMSO (çözücü kontrol) olmak üzere 7 grup oluşturuldu. Konsantrasyonlar kontroller dahil iki tekerrürlü uygulandı (Anonim, 1995; Ünsal, 1998).

Denemede uygulanan konsantrasyonlar, % 80 saflıktaki MP'den direkt olarak hazırlandı. Akvaryumlara ilave edilecek MP miktarının hesaplaması akut

toksisite denemesinde belirtildiği gibi yapıldı. Buna göre: 1.47 mg/L için 54 µL, 2.10 mg/L için 77 µL, 3.00 mg/L için 110 µL, 4.28 mg/L için 158 µL, 6.11 mg/L için 225 µL MP kullanıldı. Her bir konsantrasyon için alınan bu miktarlar 35 mL DMSO içerisinde iyice çözüldükten sonra akvaryumlara karıştırıldı (Anonim, 1995; Ünsal, 1998).

Denemeye başlamadan önce stok tankından alınan balıklar her bir akvaryuma şansa bağlı olarak 10'ar adet konuldu ve akvaryum ortamına alışmaları için 7 gün bekletildi. Konsantrasyonlar, deneme ortamına şansa bağlı olarak yerleştirilen akvaryumlara yine şansa bağlı olarak uygulandı. Her gün bakım ve beslemesi yapılan balıkların beslenmesi, denemenin sona erdirilmesine kadar devam ettirildi. Deneme, Haziran ayında 30 gün devam ettirildi ve uygulanan MP konsantrasyonları 2 günde bir yenilendi. Bu yenileme, deneme balıklarını mümkün olduğunca fazla strese maruz bırakmadan, akvaryumun sifonlanarak temizlenmesi ve suyunun azaltılması sonrası MP konsantrasyonları için taze olarak hazırlanmış stok akvaryumlarıyla sağlandı (Anonim, 1995; Ünsal, 1998).

Balıklar, testin başında belirli saatlerde (saatte bir), sonraki günlerde günlük olarak gözlenerek balıkların genel durumları, ölen ve yaşayan balık sayıları düzenli olarak kaydedildi. Ölen balıklar ortamdaki alındı, tartıldı, boyları ölçüldü ve daha sonra yakılarak imha edildi (Anonim, 1995; Ünsal, 1998). MP'nin etkilerini belirleyebilmek için alınacak kan ve doku örneklerinde yapılacak işlemlerde, dokuların tazeliği sonuçları etkileyeceği için ölen balıklardan herhangi bir doku örneği alınmamıştır (Konuk, 1981; Hinton, 1990; Ünal, 2005).

3.2.2.1. Kronik denemenin sona erdirilmesi kan ve diğer dokuların alınması

Kronik denemenin sona ermesiyle, balıkların kuyruk sapları kesilerek kan örnekleri hemoglobin miktarını belirlemek için Sahli pipetine, pipetin 0.02 mL çizgisine kadar (Kocabatmaz ve Ekingen, 1977; 1984), hematokrit tayini (Blaxhall ve Daisley, 1973; Houston, 1990), eritrosit sayımı (Kocabatmaz ve

Ekingen, 1977; Houston, 1990) ve kan hücrelerinde meydana gelen morfolojik deformasyonları belirlemek için yayma preparat hazırlamak (Konuk, 1981) amacıyla 2 ayrı 1.1 mm çaplı 75 mm uzunluğunda, içerisinde sodyum-heparin (80 iu/mL) olan mikrohematokrit tüplere alındı ve tüpün bir ucu cam macunu ile kapatılarak 4 °C'de muhafaza edildi. Alınan kan örnekleri 24 saat içerisinde çalışıldı. Kan örnekleri alındıktan sonra balıkların karnı açıldı. Histolojik çalışma için gonadlar, karaciğerin bir kısmı, solungaçların bir kısmı bouin ve % 10'luk nötral tamponlu formaldehitte tespit edildi. AChE ve BChE aktivitesini belirlemek için beyin, kas ve karaciğer dokuları çıkartılarak analize kadar -80 °C'de saklandı (Kabeer ve ark., 1980; Huang ve ark., 1997; Sancho ve ark., 2000; Bretaud ve ark., 2000; de la Torre ve ark., 2002; Chuiko ve ark., 2003; Lionetto ve ark., 2003).

3.2.3. Hematolojik analizler ve hesaplamalar

Kontrol, DMSO kontrol ve MP uygulanan tüm gruptaki balıklardan alınan kan örneklerinde hemoglobin (Hb) miktarı, hematokrit (Hct) tayini ve eritrosit (RBC) sayımı yapıldı. Kan hücrelerindeki morfolojik deformasyonları tespit etmek için yayma preparatlar hazırlandı. Ayrıca ortalama eritrosit hacmi (MCV), eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı (MCH), eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) hesaplandı (Blaxhall ve Daisley, 1973; Kocabatmaz ve Ekingen, 1977; 1984; Konuk, 1981; Satake ve ark., 1986; Reddy ve Bashamohideen, 1989; Çelik ve ark., 2003).

3.2.3.1. Hemoglobin miktarının tayini

Hb miktarının tayini için asit hematin metodunu esas alan Sahli hemoglobinometresi kullanıldı (Kocabatmaz ve Ekingen, 1977; 1984). Sahli tüpünün 2 çizgisine kadar % 5'lik HCl solüsyonu koyuldu. Sahli pipetindeki taze kan örneği bu solüsyon içerisine eklenerek Sahli'nin cam karıştırma çubuğuyla homojenize edildi ve Sahli düzeneğindeki kontrol renkleri ile karşılaştırıldı. Sahli tüpünün içindeki karışımın rengi, hemoglobinometrenin üzerindeki kontrol (karşılaştırma) rengini tutturuncaya kadar yavaş yavaş saf su eklendi. Kontrol ile

renk uyumu sağlandıktan sonra değer tüp üzerinden g/100 mL olarak okundu (Reddy ve Bashamohideen, 1989; Satake ve ark., 1986; Kocabatmaz ve Ekingen, 1977; 1984; Konuk, 1981).

3.2.3.2. Hematokrit tayini

Hct tayini için mikrohematokrit metodu kullanıldı (Blaxhall ve Daisley, 1973; Houston, 1990). Bunun için, kan içeren mikrohematokrit tüpler, Hct santrifüjü (nüvetokrit)'nde 10,500 devirde 5 dk santrifüj edildikten sonra tüplerdeki kan yüksekliği ve eritrosit yüksekliği milimetrik cetvelle ölçüldü. Ölçülen bu değerler; $Hct = (\text{eritrosit yüksekliği} / \text{toplam kan yüksekliği}) \times 100$ formülü ile Hct değeri toplam kanın %'si olarak hesaplandı (Blaxhall ve Daisley, 1973; Konuk, 1981).

3.2.3.3. Eritrosit sayısının tespiti

Mikrohematokrit tüplerde saklanan kan örnekleri, eritrosit pipetlerinin 0.5 çizgisine kadar çekildi ve 101 çizgisine kadar da Dacie's (% 40 formaldehit 10 mL, trisodyum sitrat 31.3 g, brillant cresyl blue 1 g, saf su 1 L, Blaxhall ve Daisley, 1973) çekilerek kan örnekleri 1/200 oranında sulandırıldı (Kocabatmaz ve Ekingen, 1977; Houston, 1990). İyice çalkalanan karışımın boyanması için, 1-2 dk bekletildi. Pipetin ucunda bulunan ve homojenize olmamış kan örneklerinden 4-5 damla atıldı. Homojenize olan kısımdaki örnekler Neubauer tipi Thoma laminasının kamarasına dolduruldu. Mikroskopta Thoma lamı üzerinde, 16 küçük kareden oluşan, farklı alanlardan rastgele seçilen 5 ayrı karede sayım yapıldı. Sayılan değerler; $RBC \text{ sayısı} = (5 \text{ adet orta karede sayılan hücre} \times \text{sulandırma oranı} \times 4000 \text{ (küçük kare hacmi)}) / \text{sayılan kare sayısı}$, formülü ile hesaplanarak RBC sayısı $10^6/\text{mm}^3$ cinsinden hesaplandı (Blaxhall, 1972; Blaxhall ve Daisley, 1973; Konuk, 1981).

3.2.3.4. Kan yayma preparatlarının hazırlanması ve boyanması

Lam üzerine bir damla kan örneği damlatılarak yayma preparatı hazırlandı. Preparatlar 1 saat kurutulduktan sonra May-Grünwald tespit solusyonu ile 15 dk

tespit edildi ve distile su ile yıkandı. Distile su ile 1/10 oranında seyreltilen Giemsa boyası ile 20 dk boyandı. Distile suyla yıkanan preparatlar havada kurutulduktan (Konuk, 1981) sonra Nikon Coolpix 5000 fotoğraf makinası ataçmanlı Nikon Eclipse E600 ışık mikroskobu ile incelendi ve fotoğrafları çekildi.

3.2.3.5. Ortalama eritrosit hacmi hesaplaması

Ortalama eritrosit hacmi; $MCV (\mu\text{m}^3) = [\text{Hct} (\%)/\text{RBC} (10^6/\text{mm}^3)] \times 10$ formülüyle hesaplandı (Reddy ve Bashamohideen, 1989; Satake ve ark., 1986; Kocabatmaz ve Ekingen, 1977; 1984).

3.2.3.6. Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı hesaplaması

Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı; $MCH (\mu\text{g}/\text{hücre}) = [\text{Hb} (\text{g}/100 \text{ mL})/\text{RBC} (10^6/\text{mm}^3)] \times 10$ formülüyle hesaplandı (Reddy ve Bashamohideen, 1989; Satake, ve ark., 1986; Kocabatmaz ve Ekingen, 1977; 1984).

3.2.3.7. Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu hesaplaması

Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu; $MCHC (\text{g}/100 \text{ mL}) = [\text{Hb} (\text{g}/100 \text{ mL})/\text{Hct} (\%)] \times 100$ formülüyle hesaplandı (Reddy ve Bashamohideen, 1989; Satake, ve ark., 1986; Kocabatmaz ve Ekingen, 1977; 1984).

3.2.4. Histopatoloji

Kontrol, DMSO kontrol ve 4.28 mg/L MP uygulanan balıklardan alınan dokularda inceleme yapıldı. Bouin'de tespit edilen dokular, sarı renk gidene kadar % 70'lik alkol ile yıkandı. % 10'luk nötral tamponlu formaldehitte tespit edilen dokular ise fosfat tamponlu tuz (PBS) (pH 7.4) solusyonu ile yıkandı ve % 30, % 50 ve % 70'lik alkollere alındı. Daha sonra tüm dokular sırasıyla % 80, % 96 ve % 100 alkol serilerinden geçirildi. Sonrasında, ksilol ve parafin serilerinden

geçirilen dokular parafin bloklara gömüldü. Dokulardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler, Mayer'in hematoksilen-eozin (H-E), Mallory'nin trikrom (M-T) ve McManus'un Periyodik Asit-Schiff (PAS) boyaarı ile boyandı (Hinton, 1990; Ünal, 2005). Hazırlanan preparatlar Nikon Coolpix 5000 fotoğraf makinası ataçmanlı Nikon Eclipse E600 ve Leica DMI 6000B ışık mikroskobu ile incelendi ve fotoğrafları çekildi.

3.2.5. Asetilkolinesteraz ve Butirilkolinesteraz aktivite analizi

Kontrol, DMSO kontrol ve 4.28 mg/L MP uygulanan balıklardan alınan kas, beyin ve karaciğer dokularındaki AChE ve BChE aktiviteleri, Ellman ve ark. (1961)'nin kolorimetrik metoduna göre belirlendi. Buna göre aşağıda belirtilen işlemler takip edildi:

a) Her dokudan 1 g örnek alındı, 10 mL tamponda (buz üzerinde) ultrasonik homojenizatör cihazı (Ultrasonic processor, Jencons Scientific Ltd.) kullanılarak homojenize edildi.

Homojenat tamponun hazırlanışı:

0.356 g sodyum fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ve 8.25 g sakkaroz 50 mL distile suda çözüldü, pH 7.4'e ayarlandı, solusyon distile suyla 100 mL'ye tamamlandı.

b). Elde edilen homojenat 4°C'de 30 dk 9000 rpm'de santrifüj (BHG Hermle Z320K) edildi ve süpernatant, aktivite ölçümlerinde kullanılmak üzere alındı.

c). Biri kör numune (sıfırlama) için diğeri de aktivite ölçümü için iki tüp alındı ve her bir tüpe 100 µL 1 M 5,5'-ditiyobis 2 nitrobenzoik asit (DTNB) ve 100 µL süpernatant ilave edildi.

1 M 50 mL DTNB hazırlanışı:

0.4375 g sodyum fosfat dihidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ve 0.075 g sodyum bikarbonat (NaHCO_3) 20 mL distile suda çözüldü, pH 7'ye ayarlandı. Bu

solusyona 0.198 g DTNB ilave edildi ve solusyon distile su ile 50 mL'ye tamamlandı.

d). Kör olarak kullanılan tüpler, 65°C'de 3 dk su banyosunda tutularak enzim inaktive edildi.

e). Her iki tüpe de 2.7 mL sodyum tamponu (0.05 M, pH 8) ilave edilerek, karıştırıldı.

0.05 M, pH 8 sodyum tamponun hazırlanışı:

8.75 g sodyum fosfat dihidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 900 mL distile suda çözüldü ve 1 N NaOH çözeltisiyle pH 8'e ayarlandı. Daha sonra solusyon distile su ile 1 litreye tamamlandı.

f). Tüpler 37 °C'de 5 dk su banyosunda ön inkübe edildi.

g). AChE aktivitesi için her iki tüpe 100 µL (3 mM) substrat olarak asetiltiyokolin iyodür; BChE aktivitesi için ise yine her iki tüpe 100 µL (3 mM) substrat olarak butiriltiyokolin iyodür ilave edilerek iyice karıştırıldı ve tüplerdeki solusyonlar hemen spektrofotometre (UV-1201 UV-VIS Spectrophotometer Shimadzu)'nin kuvvetlerine aktarıldı. Cihaz kör örneğe göre sıfırlanarak numune absorbans değeri 412 nm dalga boyunda okundu. Daha sonra kuvvetlerdeki solusyonlar tekrar tüplere alındı ve 37 °C'de 10 dk su banyosunda inkübe edildi.

3 mM 50 mL asetiltiyokolin iyodür substratının hazırlanışı:

0.0434 g asetiltiyokolin iyodür 20 mL 0.05 M (pH 8) sodyum fosfat dihidrat tamponu içinde çözüldükten sonra solusyon, aynı tampon ile 50 mL'ye tamamlandı.

3 mM 50 mL butiriltiyokolin iyodür substratının hazırlanışı:

0.0476 g butiriltiyokolin iyodür 20 mL 0.05 M (pH 8) sodyum fosfat dihidrat tamponu içinde çözüldükten sonra solusyon, aynı tampon ile 50 mL'ye tamamlandı.

h). İnkübasyondan sonra örneklerin absorbans değerleri, spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda kör örneğe göre sıfırlama yapıldıktan sonra, okundu. Her bir ölçüm 2 kez tekrar edildi. AChE ve BChE aktiviteleri;

$$A = \frac{\Delta OD}{13.6} \times \frac{V_C}{V_E} \times f$$

formülüne göre hesaplandı. Formülde,

A : Aktivite

ΔOD : 412 nm'de optik densitenin dakika başına değişimi

V_C : Küvet hacmi

V_E : Küvetteki süpernatant hacmi

f : Seyreltme faktörü

13.6 : 412 nm'de ve 37°C'de 3 mM asetiltiyokolin iyodür ve butiriltiyokolin iyodür'ün indirgenmesi sonucu okunan sabit değeridir (ekstinksiyon sabiti 1.36×10^4 mol/cm)

olarak kullanıldı (Güloğlu ve ark. 2006).

3.2.6. İstatistiksel analizler

Akut toksisite denemesinde elde edilen verilere göre; ilk tepki süresi, en düşük etkili konsantrasyon, ilk ölüm zamanı, medyan lethal konsantrasyon (LC_{50}), medyan etkili konsantrasyon (EC_{50}) ve her bir konsantrasyon için medyan lethal zaman (LT_{50}) parametreleri ve bunların % 95'lik güven sınırları probit analiz metoduyla, bilgisayar programı kullanılarak hesaplandı (Ünsal, 1998; Çetinkaya, 2005).

Kronik toksisite denemesinde elde edilen verilere göre; etkisi gözlemlenen en düşük konsantrasyon (LOEC), etkisi gözlenmeyen konsantrasyon (NOEC), NOEC ve LOEC'nin geometrik ortalaması alınarak maksimum kabul edilebilir toksikant konsantrasyonu (MATC), LC_{50} değerinin MATC'ye bölünerek akut kronik oranı (ACR) parametreleri hesaplandı (USEPA, 1989; USEPA, 1991; Ünsal, 1998; OECD, 2000; Çetinkaya, 2005).

Akut, kronik toksisite deneme sonuçlarından elde edilen balıkların boy ve ağırlıkları, su kalitesi parametreleri, hematolojik ve biyokimyasal analiz (verilere $\sqrt{x+1}$ transformasyonu yapıldı, Düzgüneş ve ark., (1987) değerlerinin ortalamaları ve gruplar arasındaki farklılıklar varyans analizi ve Duncan çoklu karşılaştırma yöntemiyle SAS paket bilgisayar programı kullanılarak hesaplandı (SAS, 1998). Önem seviyesi $P=0.05$ olarak seçildi.

4. BULGULAR

4.1. Akut Deneme

Akut toksisite denemesinde uygulanan MP konsantrasyonları, deneme boyunca ölçülen suyun sıcaklık, pH, çözülmüş oksijen ve hesaplanan çözülmüş oksijen saturasyon (ÇOS) (%) değerleri Çizelge 4.1’de verildi. Buna göre deneme sırasında su sıcaklığı ortalama 17.3 °C, minimum ve maksimum değerleri ise 16.5-18.8 °C olarak ölçüldü. pH ortalama 8.37, minimum 8.16 ve maksimum 8.73 olarak tespit edildi. Çözülmüş oksijen ortalama 4.61 mg/L, minimum 3.89 mg/L ve maksimum 5.60 mg/L ölçüldü. Ortalama ÇOS % 60.8 olarak hesaplandı. Deneme boyunca ölçülen elektriksel iletkenlik değerleri, ortalama EC₂₅ 874 µmhos/cm olarak hesaplandı. Deneme başlamadan önce, kullanılan suda yapılan analizlerde kalsiyum karbonat (CaCO₃) eşdeğeri olarak total sertlik 360 mg/L ve total alkalinite 540 mg/L olarak belirlendi. Denemede akvaryumlara 3-7 g arasında 10’ar balık bırakıldı. Buna göre akvaryumlardaki balıkların stok yoğunluğu ortalama 1.3 g/L olarak hesaplandı.

Çizelge 4.1. İnci kefalinde metil paration akut toksisite denemesi boyunca belirlenen su kalitesi parametreleri değerleri.

MP Konsantrasyonları (mg/L)	Sıcaklık (°C) ort. (min.-mak.)	pH ort. (min.-mak.)	ÇO (mg/L) ort. (min.-mak.)	ÇOS (%) ort.
0.00	17.8 (17.2-18.3)	8.43 (8.41-8.44)	4.82 (4.73-4.90)	65.0
952.04 (DMSO)	17.5 (16.9-18.2)	8.28 (8.25-8.35)	4.40 (4.20-4.57)	58.0
6.45	17.1 (16.8-17.8)	8.24 (8.20-8.33)	4.18 (3.89-4.75)	55.1
7.17	17.3 (16.7-18.8)	8.47 (8.45-8.52)	4.85 (4.53-5.15)	64.0
7.97	17.0 (16.5-18.1)	8.51 (8.40-8.63)	5.02 (4.37-5.56)	66.2
8.86	17.1 (16.7-17.7)	8.30 (8.27-8.36)	4.30 (4.14-4.48)	56.7
9.84	17.3 (16.7-18.6)	8.32 (8.23-8.48)	4.33 (4.02-5.38)	57.1
10.94	17.1 (16.7-18.2)	8.27 (8.16-8.43)	4.63 (4.02-5.03)	61.1
12.15	17.4 (16.6-18.6)	8.47 (8.33-8.73)	4.63 (4.01-5.60)	61.1
13.50	17.4 (16.8-18.7)	8.30 (8.17-8.43)	4.64 (4.05-5.16)	61.2
15.00	17.1 (16.8-17.9)	8.44 (8.31-8.57)	4.93 (4.23-5.45)	65.0
Genel Ortalama	17.3 (16.5-18.8)	8.37 (8.16-8.73)	4.61 (3.89-5.60)	60.8

4.1.1. Akut deneme sırasında balıkların etkilenmesi ve ölümleri

Denemede uygulanan MP konsantrasyonları ve zamana göre deneme akvaryumlarında ölen balık sayıları Çizelge 4.2’de verildi. Denemede uygulanan MP konsantrasyonları, ilk tepki zamanı, etkilenen balık sayıları, ilk ölüm zamanı, ölen balık sayısı, % ölüm ve letal konsantrasyon (LC)’lar Çizelge 4.3’de verildi. Buna göre, kontrol grubu balıklarda herhangi bir tepki ve ölüm gözlenmedi. Akut denemede uygulanan MP’nin 7.97 mg/L, 8.86 mg/L, 9.84 mg/L, 10.94 mg/L, 12.15 mg/L, 13.50 mg/L, 15.00 mg/L konsantrasyonlarında balık ölümleri gözlemlendi. MP’nin 6.45 mg/L ve 7.17 mg/L konsantrasyonlarında balıklarda davranış bozuklukları gözlenirken ölüm gerçekleşmedi. Balıkların ilk tepkisi en yüksek konsantrasyon olan 15.00 mg/L’de uygulamadan 2 saat 10 dk sonra gerçekleşti. İlk ölüm 13.50 mg/L konsantrasyonunda 3 saat 45 dk sonra (ilk tepki 2 saat 20 dk sonra) gözlemlendi. Balıklardaki ölüm oranının uygulanan konsantrasyon artışına bağlı olarak arttığı belirlendi. MP’nin en düşük letal konsantrasyonunun 7.97 mg/L olduğu gözlemlendi.

Çizelge 4.2. İnci kefalinde akut toksisite denemesinde uygulanan metil paration konsantrasyonları ve zamana göre deneme akvaryumlarında ölen balık sayıları. Her bir akvaryumda 10'ar adet balık kullanıldı.

Zaman (saat)	Akut deneme MP konsantrasyonları (mg/L)										
	0.00 DMSO	952.04	6.45	7.17	7.97	8.86	9.84	10.94	12.15	13.50	15.00
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
18	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	3
24	0	0	0	0	1	1	0	0	1	3	6
30	0	0	0	0	1	1	0	0	1	3	8
40	0	0	0	0	1	1	1	0	1	3	8
50	0	0	0	0	1	2	1	0	5	5	9
60	0	0	0	0	1	2	1	0	7	5	9
70	0	0	0	0	1	2	1	4	9	6	9
80	0	0	0	0	1	2	1	4	9	7	9
96	0	0	0	0	1	2	1	4	9	7	9

Çizelge 4.3. İnci kefalinde akut toksisite denemesinde uygulanan metil paration konsantrasyonları, ilk tepki zamanı, etkilenen balık sayıları, ilk ölüm zamanı, ölen balık sayıları, % ölüm ve letal konsantrasyonlar. Her bir akvaryumda 10'ar adet balık kullanıldı.

Deneme Konsant- rasyon- ları (mg/L)	İlk Tepki Zamanı	Etkilenen		İlk Ölüm Zamanı	Ölen		Ölüm		Letal Kon- sant- ras- yon
		Balık Sayısı	Top.		Balık Sayısı	Top.	ort. ölüm (%)	Kon- sant- ras- yon	
0.00	Tepki yok	0		-	0		0		-
DMSO (952.04)	Tepki yok	0	0	-	0	0	0	0	-
6.45	46 sa 35 dk	3	7	-	0	0	0	0	-
6.45	46 sa 35 dk	4		-	0		0		-
7.17	2 sa 45 dk	6	11	-	0	0	0	0	-
7.17	2 sa 45 dk	5		-	0		0		-
7.97	2 sa 55 dk	8	15	14 sa 10 dk	1	1	10	5	+
7.97	2 sa 55 dk	7		-	0		0		-
8.86	3 sa 05 dk	10	19	20 sa 50 dk	2	3	20	1	+
8.86	3 sa 05 dk	9		65 sa 45 dk	1		10		+
9.84	2 sa 50 dk	10	20	33 sa 30 dk	1	3	10	1	+
9.84	2 sa 50 dk	10		33 sa 30 dk	2		20		+
10.94	2 sa 40 dk	10	20	64 sa 40 dk	4	7	40	3	+
10.94	2 sa 40 dk	10		64 sa 40 dk	3		30		+
12.15	2 sa 30 dk	10	20	20 sa 20 dk	9	14	90	7	+
12.15	2 sa 30 dk	10		26 sa 50 dk	5		50		+
13.50	2 sa 20 dk	10	20	3 sa 45 dk	7	14	70	7	+
13.50	2 sa 20 dk	10		20 sa 30 dk	7		70		+
15.00	2 sa 10 dk	10	20	5 sa 15 dk	9	18	90	9	+
15.00	2 sa 10 dk	10		3 sa 55 dk	9		90		+

4.1.2. Uygulanan konsantrasyonlarda yapılan gözlemler

0.00 mg/L MP (kontrol ve DMSO kontrol grupları): Yukarıda da değinildiği gibi, kontrol grubu akvaryumlardaki balıklarda herhangi bir anormal yüzme davranışı ve ölüm görülmedi.

6.45 mg/L MP: Kimyasalın uygulanmasından 46 saat 35 dk sonra balıkların çoğunda bir durgunluk, akvaryumun bir köşesinde toplanma ve bazı balıklarda yavaş hareketler tespit edildi. Denemede, bu konsantrasyonda tutulan balıklarda ölüm gözlenmezken, 7'sinin etkilendiği ve davranış bozukluğu gösterdiği belirlendi.

7.17 mg/L MP: Bu konsantrasyondaki balıkların, ilk tepkisi kimyasalın uygulanmasından 2 saat 45 dk sonra hareketlerde yavaşlama ve durgunluk şeklinde belirlendi. 72. saatten sonra balıkların akvaryumun bir köşesinde toplandığı, genellikle durgun olduğu gözlemlendi. Bu konsantrasyondaki balıkların % 50'sinde etkilenme olduğu tespit edilirken balık ölümü gözlenmedi.

7.97 mg/L MP: Bu konsantrasyonun uygulandığı balıklarda, ilk tepki denemenin başlangıcından 2 saat 55 dk sonra hareketlerde yavaşlama ve durgunluk şeklinde belirlendi. Denemenin başlangıcından 14 saat 10 dk sonra ilk balık ölümü gerçekleşti (Çizelge 4.3). Uygulamadan 48 saat sonra bir kısım balıkta, solunum hareketi sırasında ağzında bir şeyler çeviriyormuş gibi peş peşe ağız hareketleri yaptığı, daha sonra solungaç ve ağzını birlikte aniden hareket ettirdiği gözlemlendi. 72. saatten sonra balıkların akvaryumun bir köşesinde toplandığı ve çoğunun durgunlaştığı görüldü. Bununla birlikte denemenin sonuna kadar başka ölümü gerçekleşmedi. Bu konsantrasyonda, balıkların çoğunun etkilendiği (> % 75), 1 balığın öldüğü ve ölüm oranının % 5 olduğu tespit edildi (Çizelge 4.3).

8.86 mg/L MP: Denemenin başlamasından 3 saat 05 dk sonra balıklarda hareketlerde yavaşlama, durgunluk gözlenirken, 1 balığın akvaryumun tabanında hareketsiz bir şekilde yattığı gözlemlendi. 15. saatte, birinci akvaryumda 3 balığın tabanda yan yattığı, ikinci akvaryumdaki bazı balıkların zaman zaman dönme

hareketi yaptığı, diğerlerinin ise kısmen dengesiz yüzdüğü görüldü. İlk balık ölümü, birinci akvaryumda 20 saat 50 dk sonra gözlenirken, ikinci akvaryumda 65 saat 45 dk sonra gözlendi (Çizelge 4.3). Birinci akvaryumda ilk ölümün görüldüğü zamanda bazı balıkların dengesiz yüzdükleri, 2 balığın da tabana dik pozisyonda durduğu kaydedildi. İkinci akvaryumda uygulamadan 20 saat 50 dk sonra yapılan gözlemlerde balıkların dengesiz hareket ettikleri, 48. saatten sonra denemenin sonuna kadar bazı balıkların tabanda bir köşede toplandıkları, bazılarının dengesiz yüzmeye çalıştıkları, diğerlerinin ise tabanda yan yattığı görüldü. Denemenin 42. saatinde, birinci akvaryumda 2. balık öldü. Bununla birlikte ikinci akvaryumda denemenin sonuna kadar başka balık ölümü gözlenmedi. Bu konsantrasyonda, hemen hemen bütün balıkların etkilendiği, toplam 3 balığın öldüğü ve ölüm oranının % 15 olduğu belirlendi (Çizelge 4.3).

9.84 mg/L MP: Deneme başlamasından 2 saat 50 dk sonra her iki akvaryumdaki balıklardan, bazılarının tabanda yan yattığı, bazılarının dengesiz yüzmeye çalıştıkları, bazılarının ise düzensiz solunum yaptıkları ve ani hareket ettikleri gözlendi. 3 saat sonra ise her iki akvaryumdaki bazı balıkların sıçrama hareketi yaptıkları, diğerlerinin ise dengesiz yüzme hareketi yaptığı belirlendi. 8. saatte balıkların çoğunun tabanda yan yattığı, diğerlerinin dengesiz yüzmeye çalıştıkları ve düzensiz solunumun yaptıkları kaydedildi. Daha sonraki saatlerde de benzer davranış bozukluklarının yanında, solunum hareketi sırasında ağzında bir şeyler çeviriyormuş gibi peş peşe ağız hareketleri yaptığı, daha sonra solungaç ve ağzını birlikte aniden hareket ettirdiği gözlendi. Her iki akvaryumda ilk ölüm denemenin başlamasından 33 saat 30 dk sonra gerçekleşti (Çizelge 4.3). Bu konsantrasyonda denemenin başlamasından 2 saat 50 dk sonra bütün balıkların davranış bozukluğu gösterdiği, deneme sırasında 3 balığın öldüğü, ölüm oranının % 15 olduğu belirlendi.

10.94 mg/L MP: Kimyasal uygulandıktan 2 saat 40 dk sonra 3 balıkta tabanda yan yatma, diğerlerinde dengesiz yüzme ve düzensiz solunum hareketleri gözlendi. Uygulamadan 15 saat sonra her iki akvaryumdaki balıkların çoğunda

tabanda yan yatma, kendi ekseninde dairesel hareketler, dengesiz yüzme, zaman zaman suyun yüzeyine ani sıçrama hareketleri gözlemlendi. Denemenin başlamasından 66 saat sonra balıkların çoğunda tabanda ve yüzeyde yan yatma, dengesiz yüzme hareketleri, tabandaki bir balıkta baş aşağı dik durumda hareket gözlemlendi. İlk balık ölümü her iki akvaryumda da kimyasalın uygulanmasından 64 saat 40 dk sonra gözlemlendi (Çizelge 4.3). Birinci akvaryumda 65. saatte bir ve 66. saatte iki balık ölümü gözlemlenirken, ikinci akvaryumda 70. ve 90. saatlerde bir balığın öldüğü gözlemlendi. Bu konsantrasyonun uygulandığı balıklarda ilk davranış bozuklukları uygulamadan 2 saat 40 dk sonra gözlemlenirken, tüm balıkların etkilendiği, toplam 7 balığın öldüğü ve ölüm oranının % 35 olduğu belirlendi (Çizelge 4.3).

12.15 mg/L MP: Denemenin başlamasından 2 saat 30 dk sonra, 3 balığın tabanda yan yattığı, diğerlerinin dengesiz yüzme ve düzensiz solunum hareketi yaptıkları gözlemlendi. Uygulamadan 8 saat sonra balıkların tamamının tabanda yan yattığı, bir kaçının arada bir hareket etmeye çalıştığı gözlemlendi. İlk balık ölümünün birinci akvaryumda 20 saat 20 dk sonra, ikinci akvaryumda ise 26 saat 50 dk sonra olduğu tespit edildi (Çizelge 4.3). 20. saatten sonra bazı balıkların tabanda, bazılarının yüzeye yakın bölgede yan yattığı veya düzelmeye çalıştıkları ve kendi eksenini etrafında dönme hareketi yaptıkları kaydedildi. 72. saatten sonra balıklar benzer anormal davranış göstermekle birlikte yan yatan balıkların baş ve kuyruk kısmının bir yay gibi kıvrılmış vücut yapısına sahip oldukları, yan yatan balıkların gövdelerini tabandan kaldırma hareketi yaptıkları ancak kaldıramadıkları gözlemlendiği, bazı balıkların kafası tabanda dik vaziyette taban boyunca dolaştıkları belirlendi. Birinci akvaryumda uygulamanın 44-68. saatleri arasında 8 balık öldüğü, ikinci akvaryumda 39-50. saatleri arasında 4 balığın öldüğü gözlemlendi (Çizelge 4.3). Bu konsantrasyonun uygulandığı bütün balıklar uygulamadan 2 saat 30 dk sonra davranış bozukluğu gösterdiği ve 14 balığın öldüğü gözlemlendi, ölüm oranı % 70 olarak hesaplandı (Çizelge 4.3).

13.50 mg/L MP: Bu konsantrasyonda, uygulamadan 2 saat 20 dk sonra bütün balıkların hareketsiz bir şekilde tabanda yan yattığı, dengesiz yüzme hareketleri yaptığı ve bu sırada tabana düştükleri ve düzensiz solunum yaptıkları belirlendi. Uygulamadan 4 saat sonra bazı balıkların tabanda yan yattıkları, bazılarının sıçrama hareketleri yaptıkları gözlemlendi. İlk balık ölümü birinci akvaryumda uygulamadan 3 saat 45 dk sonra, ikinci akvaryumda 20 saat 30 dk sonra gerçekleşti (Çizelge 4.3). Uygulamadan 20 saat sonra balıkların çoğunun tabanda, bazılarının suyun yüzeyinde yan veya karnı yukarıda yattıkları, düzelmek için yüzme hareketleri yaptıkları, kendi etrafında döndükleri, düzensiz solunum hareketleri tespit edildi. 48. saatten sonra bütün balıkların tabanda yan yattıkları gözlemlendi. Uygulamada 73. saatten sonra tabanda yan yatan balıkların yanında bazı balıkların kendi eksenleri etrafında döndüğü, düzensiz solunum yaptıkları, bazen bazı balıkların başı tabana dik vaziyette dolaştıkları görüldü. Birinci akvaryumda uygulamanın 9-47. saatleri arasında 4 balık, 65-78. saatleri arasında 2 balık, ikinci akvaryumda 56-90. saatleri arasında 6 balığın öldüğü gözlemlendi (Çizelge 4.3). Genel bir değerlendirme yapıldığında, bu uygulamada toplam 14 balığın öldüğü ve ölüm oranının % 70 olduğu belirlendi (Çizelge 4.3).

15.00 mg/L MP: Bu konsantrasyonun uygulanmasından 2 saat 10 dk sonra bütün balıkların hareketsiz bir şekilde tabanda yan yattıkları ve düzensiz solunum yaptıkları gözlenirken, bazılarının düzelmek için hareket etmeye çalıştıkları ancak düzelemedikleri belirlendi. Uygulamadan 21 saat sonra tabanda yan yatan balıkların, uzun aralıklarla solunum yaptıkları, bir balığın suyun yüzeyinde bazen karnı yukarıda, bazen normal duruşta ancak gövdesinin ortasından bir yay gibi bükülü vaziyette olduğu belirlendi. Bu konsantrasyonda ilk balık ölümü, birinci akvaryumda uygulamadan 5 saat 15 dk sonra, ikinci akvaryumda ise 3 saat 55 dk sonra gözlemlendi (Çizelge 4.3). Uygulamadan 48 saat sonra bazı balıkların suyun yüzeyinde sırt üstü yattıkları ve vücutlarının aşağı doğru kıvrıldığı gözlemlendi. Birinci akvaryumda denemenin başlamasından sonra 13-43. saatleri arasında 8 balığın, ikinci akvaryumda 7-21. saatleri arasında 7 balığın, 73. saatte 1 balığın öldüğü belirlendi (Çizelge 4.3). Buna göre toplamda

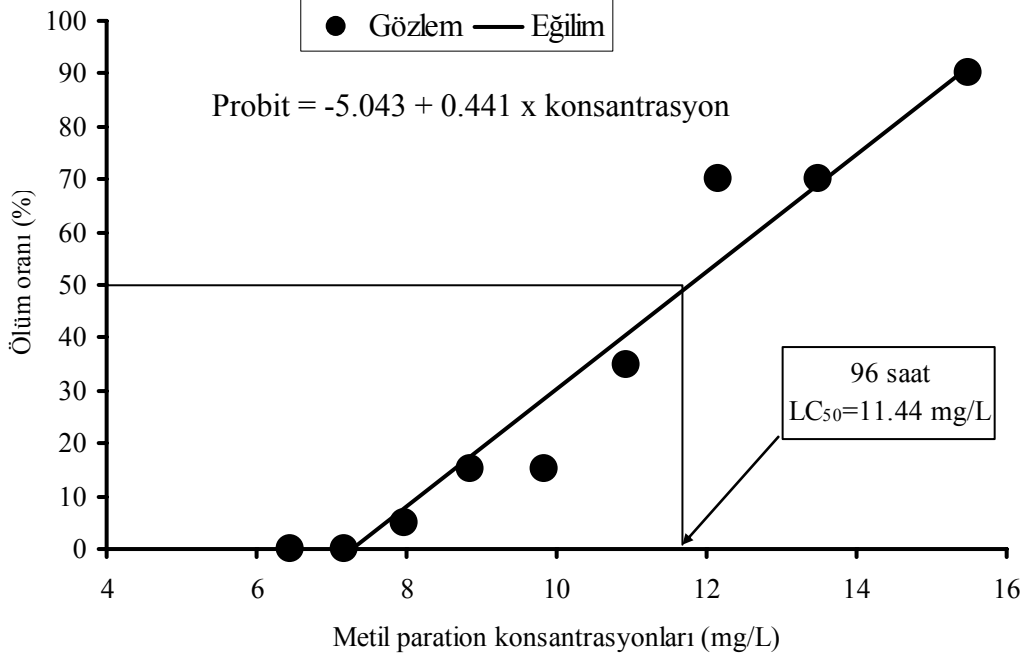
18 balığın öldüğü ve bu konsantrasyonda ölüm oranının % 90 olduğu belirlendi (Çizelge 4.3).

4.1.3. Akut toksisite denemesinde belirlenen LC₅₀, EC₅₀ ve LT₅₀ değerleri

MP'nin farklı konsantrasyonlarında gerçekleştirilen akut toksisite testi sonucu elde edilen ve Çizelge 4.3'de verilen değerler kullanılarak belirlenen 24, 48, 72 ve 96 saat LC₅₀ değerleri ve bunların % 95'lik güven sınırları Çizelge 4.4'te verildi. Buna göre, LC₅₀ değerinin 24 saatte 14.55 mg/L (% 95 güven aralığı, 13.41-16.52), 48 saatte 12.92 mg/L (% 95 güven aralığı, 11.98-14.15), 72 saatte 11.63 mg/L (% 95 güven aralığı, 10.80-12.55) ve 96 saatte 11.44 mg/L (% 95 güven aralığı, 10.68-12.27) olduğu belirlendi. İnci kefalı MP konsantrasyon-tepki grafiği ve probit analiziyle bulunan 96 saat LC₅₀ değeri Şekil 4.1'de verildi.

Çizelge 4.4. İnci kefalinde, metil paration akut toksisite testinde belirlenen 24, 48, 72 ve 96 saat LC₅₀ değerleri ile bunlara ait güven sınırları.

Saat	LC ₅₀ (mg/L)	LC ₅₀ (mg/L)
		% 95 Güven sınırları
24	14.55	13.41-16.52
48	12.92	11.98-14.15
72	11.63	10.80-12.55
96	11.44	10.68-12.27

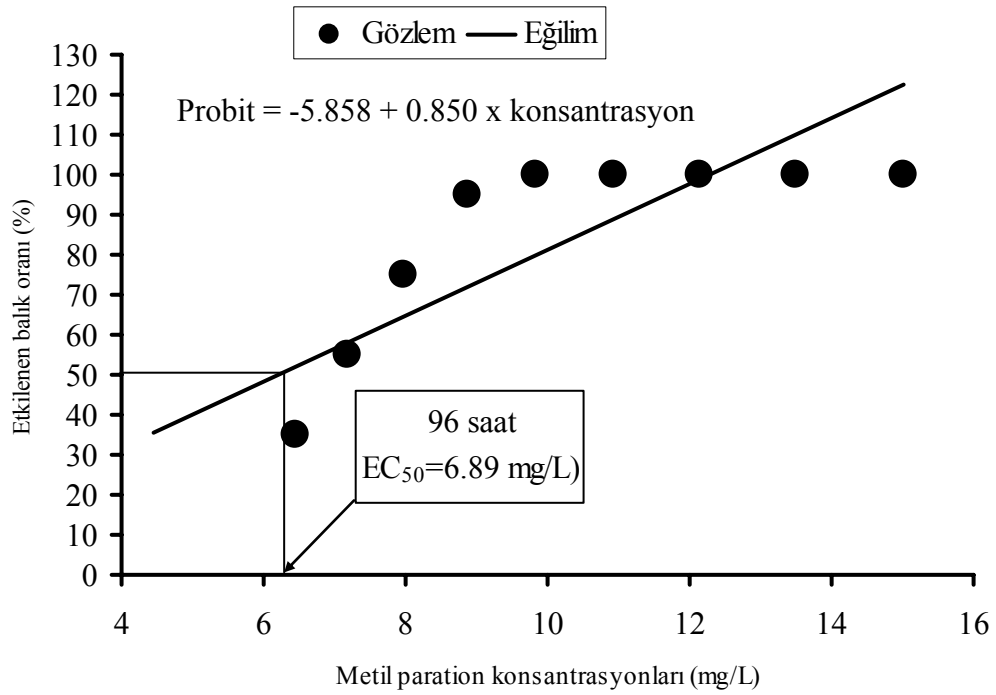


Şekil 4.1. İnci kefalinde metil paration akut toksisite testinde konsantrasyon-tepki grafiği ve probit analiziyle bulunan 96 saat LC₅₀ değeri.

Denemenin 24, 48, 72 ve 96. saatlerinde EC₅₀ değerleri ve bunların % 95'lik güven sınırları Çizelge 4.5'te verildi. Buna göre, EC₅₀ değerinin 6.89 mg/L (% 95 güven aralığı, 6.17-7.41) olduğu, balıkların MP'den uygulamanın ilk 24 saat içerisinde etkilendikleri ve EC₅₀ değerinin zamanla değişmediği belirlendi. MP akut toksisite testinde konsantrasyon-tepki grafiği ve probit analiziyle bulunan 96 saat EC₅₀ değeri Şekil 4.2'de verildi.

Çizelge 4.5. İnci kefalı üzerinde metil paration akut toksisite testinde belirlenen 24, 48, 72 ve 96 saat EC₅₀ değerleri ile bunlara ait güven sınırları.

Saat	EC ₅₀ (mg/L)	EC ₅₀ (mg/L)
		% 95 Güven sınırları
24	6.89	6.17-7.41
48	6.89	6.17-7.41
72	6.89	6.17-7.41
96	6.89	6.17-7.41



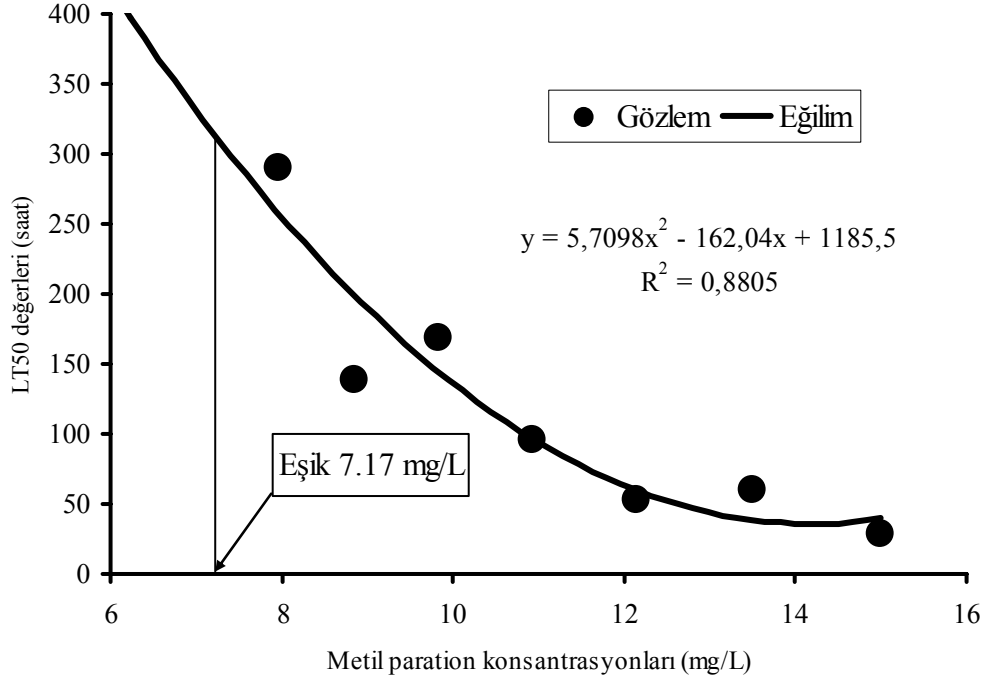
Şekil 4.2. İnci kefalinde metil paration akut toksisite testinde konsantrasyon-tepki grafiği ve probit analiziyle bulunan 96 saat EC₅₀ değeri.

Akut toksisite testinde balık ölümünün gerçekleştiği konsantrasyonlar ve Probit analizi ile bulunan LT₅₀ değerleri Çizelge 4.6'da verildi. Buna göre, 7.97,

8.86 ve 9.84 mg/L konsantrasyonlarındaki LT_{50} değerleri akut deneme süresi olan 96 saatin üzerinde olduğu hesaplandı. Diğer konsantrasyonlardaki LT_{50} değerlerinin 96 saatten daha az olduğu ve en küçük LT_{50} değerinin 15.00 mg/L konsantrasyonda 28.14 saat olduğu belirlendi. MP'nin 7.97 mg/L ve üzeri konsantrasyonlarında, LT_{50} değerlerine karşılık gelen konsantrasyon-zaman grafiği Şekil 4.3'de verildi. Konsantrasyon arttıkça beklenildiği gibi LT_{50} süreleride kısalmaktadır.

Çizelge 4.6. İnci kefalinde, metil paration akut toksisite testinde belirlenen konsantrasyonlara göre LT_{50} değerleri ve % 95'lik güven sınırları.

Konsantrasyon (mg/L)	LT_{50} (saat)	LT_{50} (saat)
		% 95 Güven sınırları
7.97	289.29	-
8.86	138.55	92.18-3278.41
9.84	168.08	111.25-1101.13
10.94	95.33	80.06-130.26
12.15	53.38	39.33-68.04
13.50	59.44	43.31-77.56
15.00	28.14	10.55-54.50



Şekil 4.3. İnci kefalinde akut toksisite testinde metil paration konsantrasyonlarına karşılık gelen LT₅₀ değerleri.

4.2. Kronik Deneme

Denemede akvaryumlara 3-7 g arasında 10'ar balık bırakıldı. Buna göre akvaryumlardaki balıkların stok yoğunluğu ortalama 1.3 g/L olarak hesaplandı. Kronik toksisite denemesinde uygulanan MP konsantrasyonları ve deneme boyunca ölçülen suyun sıcaklık, pH, çözülmüş oksijen ve hesaplanan çözülmüş oksijen saturasyonu (ÇOS) (%) değerleri Çizelge 4.7'de verildi. Buna göre deneme sırasında su sıcaklığı ortalama 17.9 °C, minimum ve maksimum değerleri ise 17.0-19.9 °C arasında ölçüldü. pH değerleri ortalama 8.46 minimum ve maksimum değerleri ise 8.15-8.77 olarak tespit edildi. Çözülmüş oksijen değeri ortalama 6.04 mg/L, minimum ve maksimum değerleri ise 5.02-7.07 mg/L olarak ölçüldü. Ortalama ÇOS, % 81.4 olarak hesaplandı. Deneme boyunca ölçülen

elektriksel iletkenlik (EC) değerlerinden hesaplanan ortalama EC_{25} 882 μ mhos/cm olarak hesaplandı. Deneme akvaryumlarında kullanılan suda deneme başlamadan önce yapılan analizlere göre $CaCO_3$ eşdeğeri olarak total sertlik 344 mg/L ve total alkalinite 518 mg/L olarak belirlendi.

Çizelge 4.7. İnci kefalinde metil paration kronik toksisite testi boyunca belirlenen su kalitesi parametreleri değerleri.

Deneme Konsantrasyonları (mg/L)	Sıcaklık (°C) ort. (min.-mak.)	pH ort. (min.-mak.)	ÇO (mg/L) ort. (min.-mak.)	ÇOS (%) ort.
0.00	17.9 (17.3-19.8)	8.47 (8.22-8.71)	6.08 (5.02-7.07)	81.9
952.04 (DMSO)	17.9 (17.2-19.6)	8.46 (8.32-8.74)	5.97 (5.06-6.96)	80.5
1.47	18.1 (17.4-19.9)	8.48 (8.15-8.77)	6.08 (5.15-6.98)	81.9
2.10	18.1 (17.1-19.8)	8.45 (8.28-8.69)	5.95 (5.11-7.01)	80.2
3.00	17.8 (17.0-19.1)	8.46 (8.28-8.72)	6.02 (5.06-7.02)	81.1
4.28	17.9 (17.3-19.1)	8.49 (8.27-8.75)	6.16 (5.10-6.94)	83.0
6.11	17.9 (17.0-19.1)	8.44 (8.20-8.69)	5.99 (5.06-6.97)	80.7
Genel Ortalama	17.9 (17.0-19.9)	8.46 (8.15-8.77)	6.04 (5.02-7.07)	81.4

4.2.1. Kronik toksisite denemesinde yapılan gözlemler

Kronik toksisite denemesinde uygulanan konsantrasyonlar, akut toksisite testinde elde edilen sonuçlara göre belirlendi. Denemede, akut toksisite testinde ölümün beklenmediği konsantrasyonlar seçildi. Kronik denemede, test gruplarında testin başlangıcında, saatlik ve devamında günlük olarak morfolojik gözlemler yapıldı ve ölümler kaydedildi. Bununla birlikte, MP'nin 4.28 mg/L konsantrasyonunda, denemenin başlangıcından 12 gün sonra 1 balık, 15 gün sonra 1 balık olmak üzere toplam 2 balığın öldüğü, 6.11 mg/L konsantrasyonunda ise denemenin 6. gününde 2 balık, 9. gününde 1 balık, 13. gününde 1 balık olmak üzere toplam 4 balığın öldüğü gözlemlendi. Deneme boyunca, kontrol ve MP uygulama gruplarında başka ölümün gerçekleşmediği, zaman zaman gruplardaki bazı balıklarda durgunluk dışında herhangi bir anormal davranış belirlenmedi.

4.2.2. Hematoloji

Farklı konsantrasyonlarda 30 gün süreyle MP uygulanan balıklardan alınan kan örneklerinden ölçülen hemoglobin (Hb) ve hematokrit (Hct) değerleri, eritrosit (RBC) sayıları, ortalama eritrosit hacmi (MCV), eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı (MCH) ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonları (MCHC) Çizelge 4.8’de verildi. Buna göre kontrol ve DMSO kontrol grupları arasında Hb değerlerinde fark olmadığı belirlenirken, 1.47 ve 3.00 mg/L’deki Hb değerinin kontrole göre azaldığı ve bu azalmanın sadece DMSO kontrolüne göre istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi ($P<0.05$). MP’nin 2.10, 4.28 ve 6.11 mg/L konsantrasyonunda Hb değerlerinin kontrollere göre azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu ($P<0.05$) belirlenirken bu konsantrasyonlar arasında da Hb değerlerinde azalma olduğu ancak bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi ($P>0.05$).

Hct değerlerinde kontrol ve DMSO kontrol grupları arasında önemli bir fark yoktu ($P>0.05$). MP’nin 1.47 ve 3.00 mg/L konsantrasyonlarında kontrollere göre önemli bir fark olmadığı gözlemlendi ($P>0.05$). MP’nin diğer konsantrasyonlarında (2.10, 4.28 ve 6.11 mg/L) ölçülen Hct değerlerinin de kontrollere göre azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu ($P<0.05$) belirlendi. MP’nin 2.10, 4.28 ve 6.11 mg/L konsantrasyonlarında Hct değerlerinin 3.00 mg/L’ye göre azaldığı ve bu azalmanın da önemli olduğu belirlendi ($P<0.05$).

Çizelge 4.8’de görüldüğü gibi kontrol, DMSO kontrol ve MP’nin bütün konsantrasyonları arasında RBC sayısı ve MCV değerleri arasında değişmelerin istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi ($P>0.05$). Kontrol ve DMSO kontrol grupları arasında MCH değerlerinde önemli bir fark olmadığı belirlendi. Aynı zamanda MP’nin bütün konsantrasyonlarındaki MCH değerlerinin kontroller ile kıyaslandığında da önemli bir fark olmadığı gözlemlendi. MCH değerlerinin konsantrasyonlara göre de değişmediği tespit edildi. Diğer parametrelerde olduğu

gibi kontrol ve DMSO kontrol grupları arasında MCHC değerlerinin önemli bir fark olmadığı, MP'nin bütün konsantrasyonlarında MCHC değerlerinin kontrollere göre azaldığı, ancak bu azalmanın sadece 6.11 mg/L'de önemli olduğu belirlendi ($P<0.05$). MP'nin uygulanan konsantrasyonları arasında MCHC değerlerindeki değişmenin önemli olmadığı gözlemlendi ($P>0.05$).

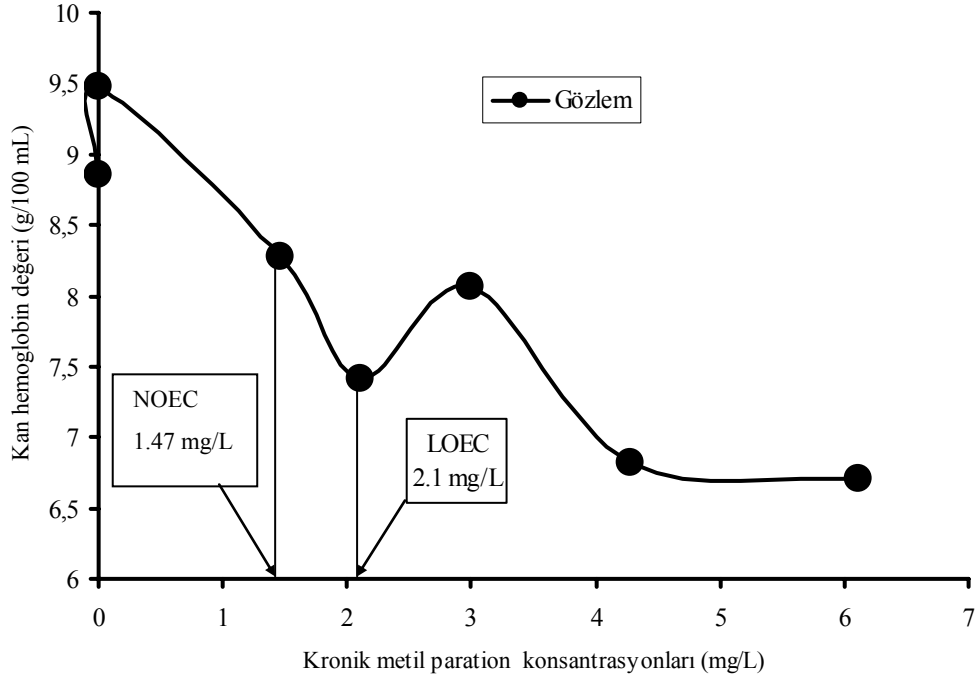
Çizelge 4.8. İnci kefalinde metil paration kronik denemesi sonunda balıklardan alınan kan örneklerinde, hemoglobin (Hb), hematokrit (Hct), eritrosit sayısı (RBC), ortalama eritrosit hacmi (MCV), eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı (MCH) ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonları (MCHC), Ortalama±standart hata.

Konsantrasyon (mg/L)	Hb (g/100 mL)	Hct (%)	RBC (10 ⁶ mm ³)	MCV (µm ³)	MCH (µg/hücre)	MCHC (g/100 mL)
0.00	8.86±0.35 ^{ab}	37.11±0.86 ^a	2.34±0.05 ^a	160.24±4.82 ^a	38.17±1.58 ^{ab}	23.90±0.84 ^{ab}
952.04 (DMSO)	9.48±0.31 ^a	38.04±1.08 ^a	2.34±0.08 ^a	165.00±6.20 ^a	41.21±1.77 ^a	25.03±0.61 ^a
1.47	8.28±0.20 ^{bc}	35.76±1.20 ^{ab}	2.32±0.14 ^a	162.24±8.82 ^a	38.26±2.28 ^{ab}	23.54±0.91 ^{ab}
2.10	7.42±0.23 ^{dc}	32.10±1.15 ^b	2.68±0.27 ^a	154.64±21.79 ^a	34.26±6.16 ^{ab}	22.53±0.92 ^{abc}
3.00	8.07±0.51 ^{bc}	37.69±1.29 ^a	-	-	-	23.00±1.04 ^{abc}
4.28	6.82±0.31 ^d	33.16±1.85 ^b	2.44±0.10 ^a	140.36±6.31 ^a	29.58±1.33 ^b	21.38±0.73 ^{bc}
6.11	6.71±0.25 ^d	32.79±1.67 ^b	2.47±0.32 ^a	178.65±24.34 ^a	34.06±5.42 ^{ab}	20.55±1.29 ^c
Genel ortalama	8.11±0.15	35.36±0.52	2.42±0.07	160.70±5.22	36.74±1.24	23.07±0.36

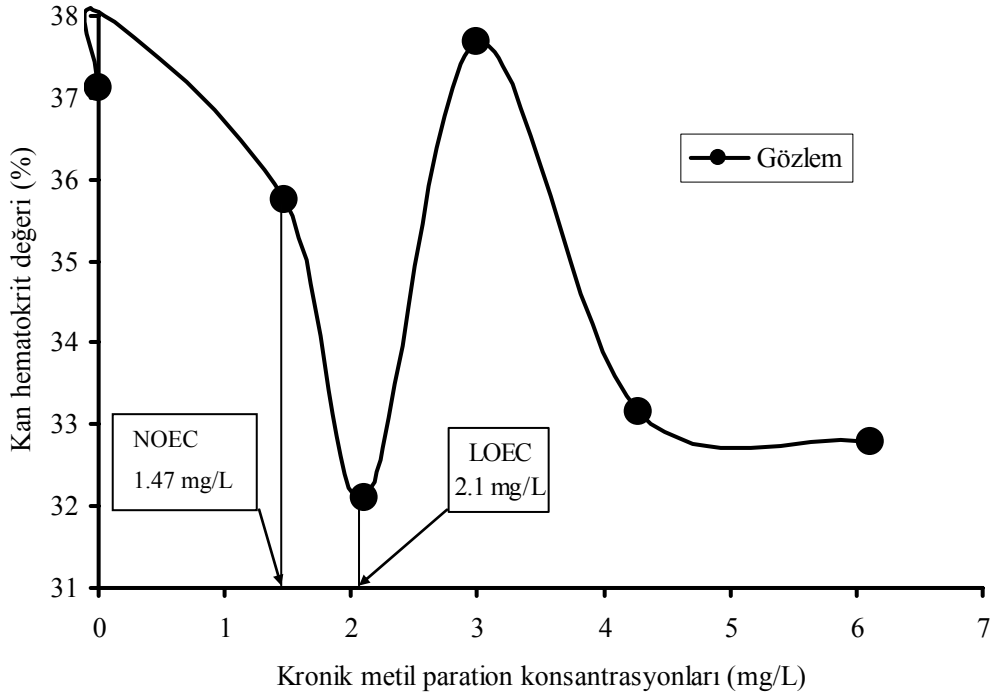
a, b, c, d Duncan çoklu karşılaştırma testine göre, metil paration konsantrasyonuna bağlı olarak gruplar arası ortalama değerlerin farklılıklarını ifade etmektedir, aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (p>0.05), (-) 3.00 mg/L MP konsantrasyonundaki balıklarda eritrosit sayımı yapılamamış, ortalama eritrosit hacmi ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı hesaplanamamıştır.

4.2.3. Kronik toksisite denemesinde belirlenen LOEC, NOEC, MATC ve ACR değerleri

Kronik denemenin sonunda balıklardan alınan kanda belirlenen hemoglobin ve hematokrit değerlerine göre LOEC değeri 2.10 mg/L, NOEC değeri 1.47 mg/L, MATC değeri 1.76 mg/L, ACR değeri 6.50 mg/L olarak belirlendi. İnci kefali zerine MP'nin kronik toksisite denemesi sonunda alınan kana ait hemoglobin (Şekil 4.4) ve hematokrit (Şekil 4.5) LOEC ve NOEC değerleri verildi.

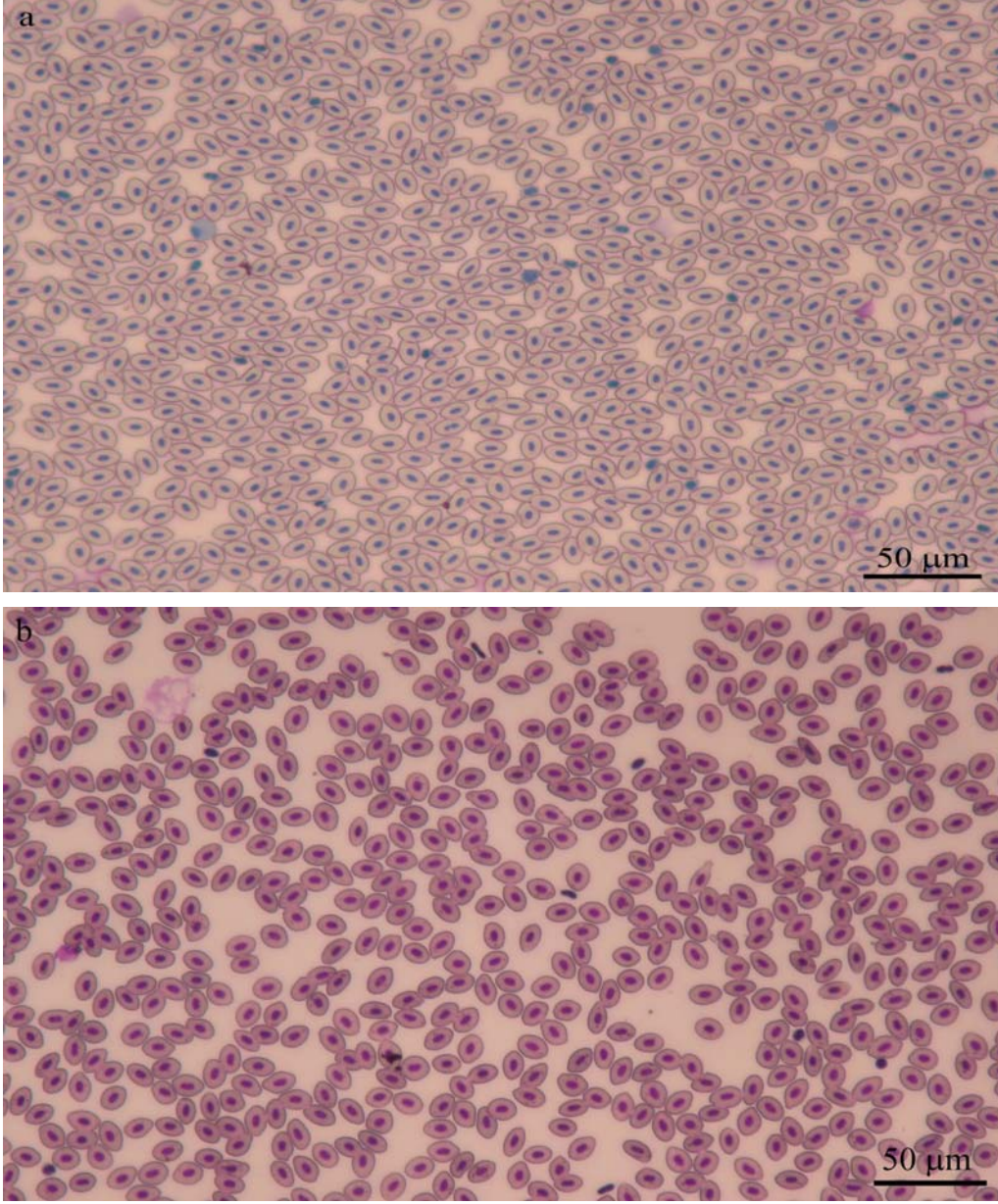


Şekil 4.4. Kronik metil paration konsantrasyonları ve inci kefalinde kan hemoglobin değerleri esas alınarak belirlenen LOEC ve NOEC değerleri.



Şekil 4.5. Kronik metil paration konsantrasyonlarına göre inci kefalinde kan hematokrit değerleri esas alınarak belirlenen LOEC ve NOEC değerleri.

Deneme sonunda balıklardan alınan kan örneklerinden hazırlanan yayma preparatlarda MP'nin bütün konsantrasyonlarında eritrositlerin morfolojilerinde herhangi bir değişiklik gözlenmedi. Kontrol ve MP uygulanan balıklarda tespit edilen kan hücre morfolojileri Şekil 4. 6a ve b'de görülmektedir.



Şekil 4.6. İnci kefalinde eritrositlerin görüntüsü. a) kontrol grubu, b) 4.28 mg/L metil paration uygulama grubu. (Giemsa)

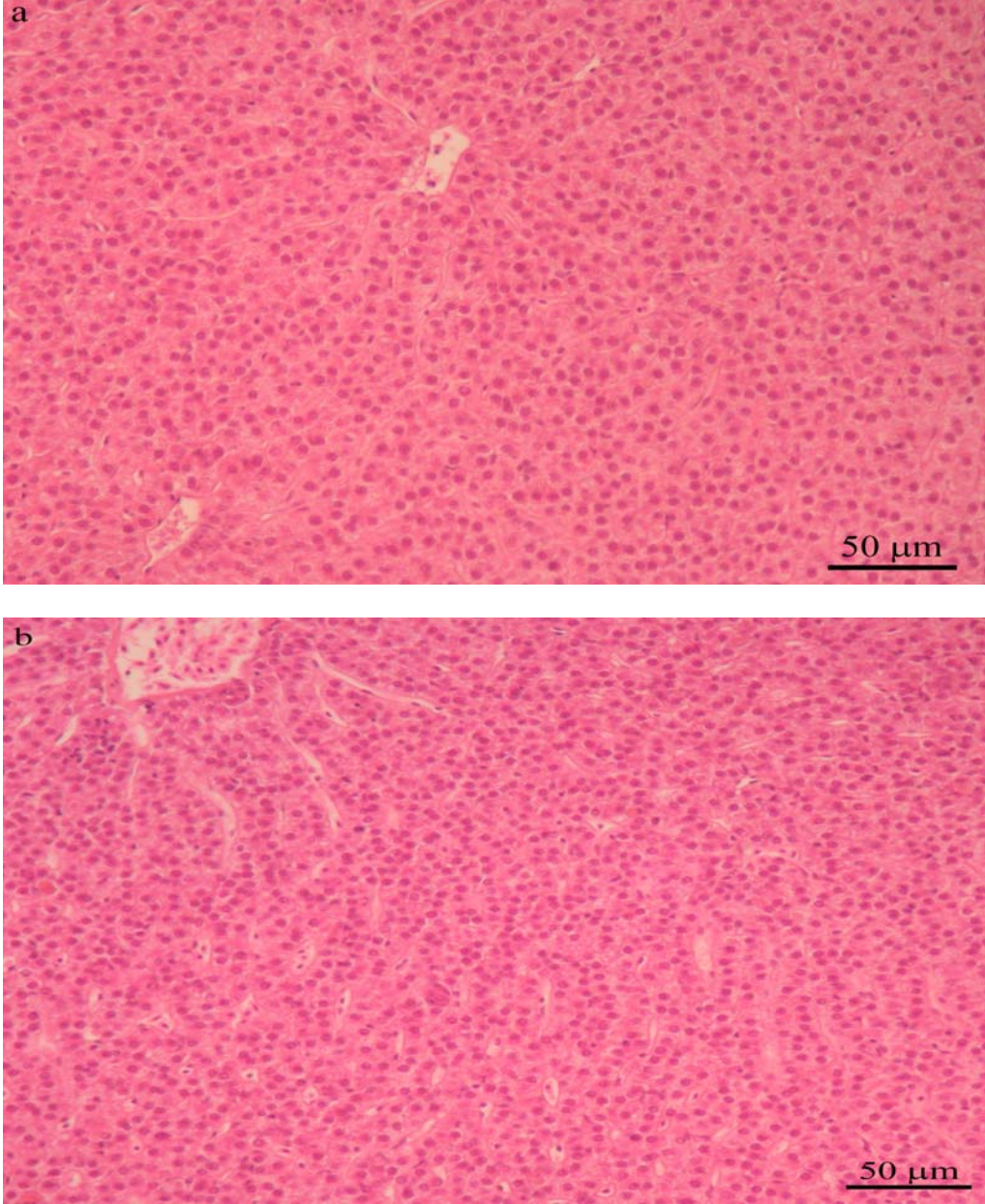
4.2.4. Metil parationun karaciğer, solungaç, ovaryum ve testis dokuları üzerine etkileri

Karaciğer dokusu: Kontrol ve DMSO kontrol grubu balıkların karaciğer dokusundan alınan kesitlerde herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmadı (Şekil 4.7a ve b).

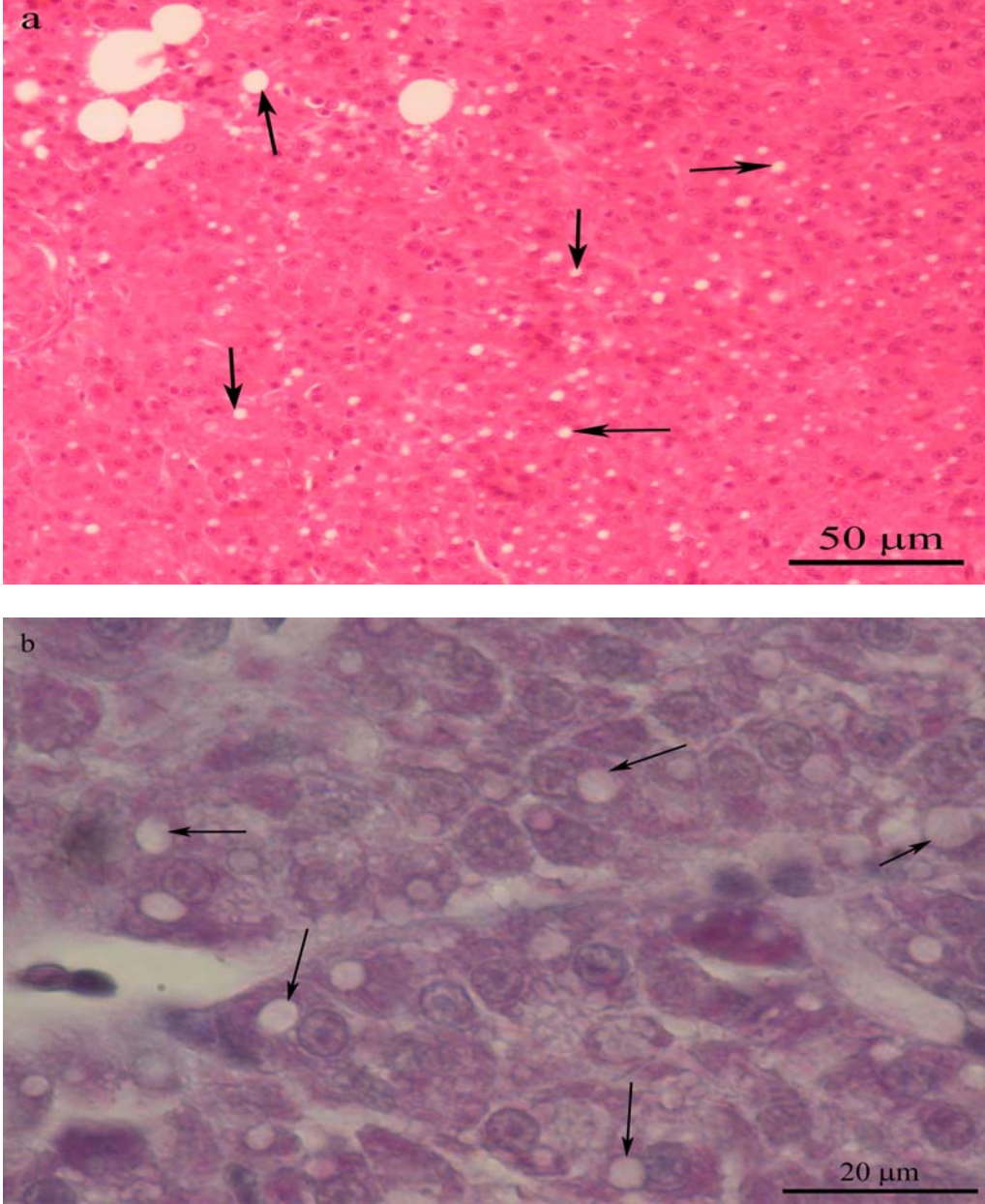
MP uygulanan balıkların bazılarında hepatositlerin çoğunun farklı büyüklüklerde yağ damlası içerdiği gözlemlendi (Şekil 4.8a, b). Bazı bölgelerde bu yağ damlalarının çok büyük olduğu ve bunların birleşik büyük vakuol şeklinde yapılar oluşturduğu da gözlemlendi. Bu yapılar özellikle portal alan bölgelerinde ve safra kanallarının etrafında daha belirgindi. Bununla birlikte bazı balıkların karaciğerinde hepatositlerin hiç birinde, kontrol grubundaki gibi, yağ damlası olmadığı ancak karaciğerin bazı bölgelerinde sinüzoidler arasında hipertrofi olmuş hücre gruplarının varlığı, bazı bölgelerde hücre ölümlerinden kaynaklanan alanların olduğu tespit edildi (Şekil 4.9a, b; Şekil 4.10a) ve bazı bölgelerde ise eozinofilik hücre gruplarının varlığı gözlemlendi (Şekil 4.10b).

Bir balığın karaciğerinde de bazı bölgelerde sinüzoidlerin düzensiz bir şekilde genişlediği (Şekil 4.11a) tespit edilirken, bir balıkta hepatik portal damarlarının çok fazla genişlediği (Şekil 4.11b) belirlendi. Bu balıkta daha belirgin olmak üzere diğer balıklarda da hepatosit hücreleri arasında sarı renkli iri damlaların bulunduğu, bu damların tek tek olabildiği gibi birkaç damlanın bir arada olduğu, bazı bölgelerde çok sayıda olan bu damlaların kist içerisine alındığı tespit edildi (Şekil 4.12a, b, c; Şekil 4.13a, b ve c).

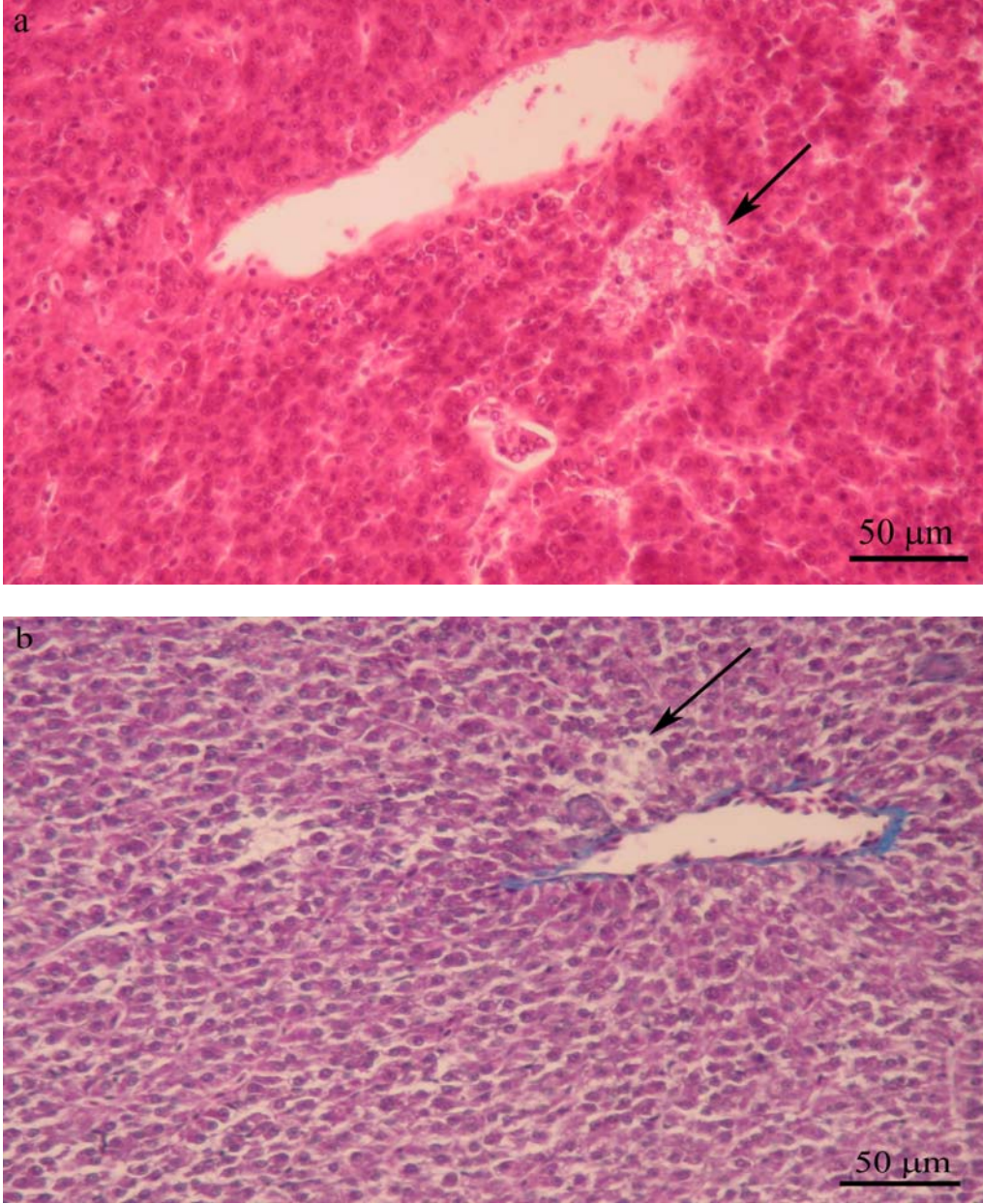
Kontrol ve MP uygulanan balıklarda hepatositlerde depo edilen glikojen içeriğinde, PAS boyama ile belirgin bir fark gözlemlenmedi (Şekil 4.14a ve b).



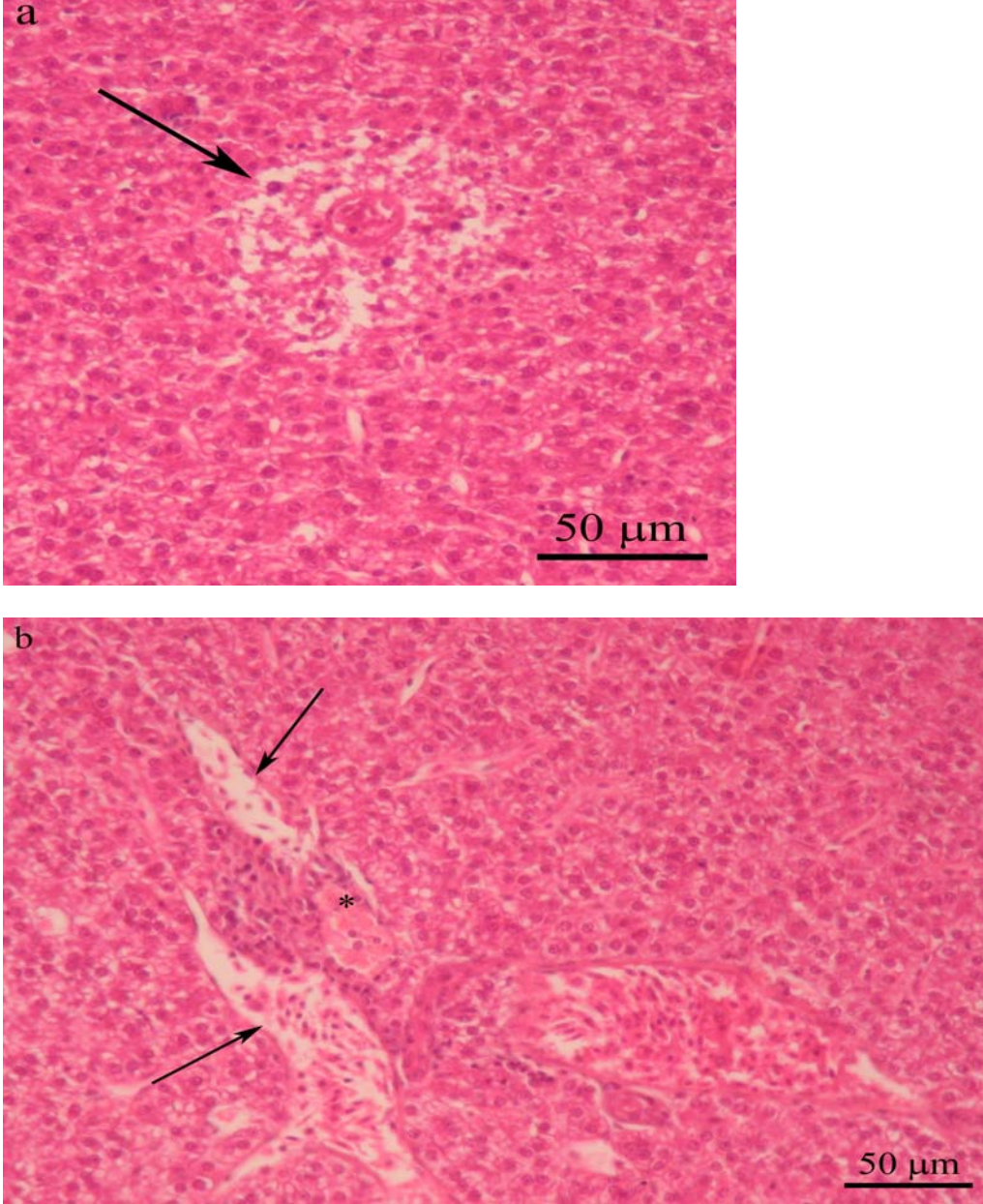
Şekil 4.7. İnci kefalinde, a) kontrol ve b) DMSO kontrol balıkların karaciğer dokusundan alınan kesit görüntüleri. (a ve b: H-E)



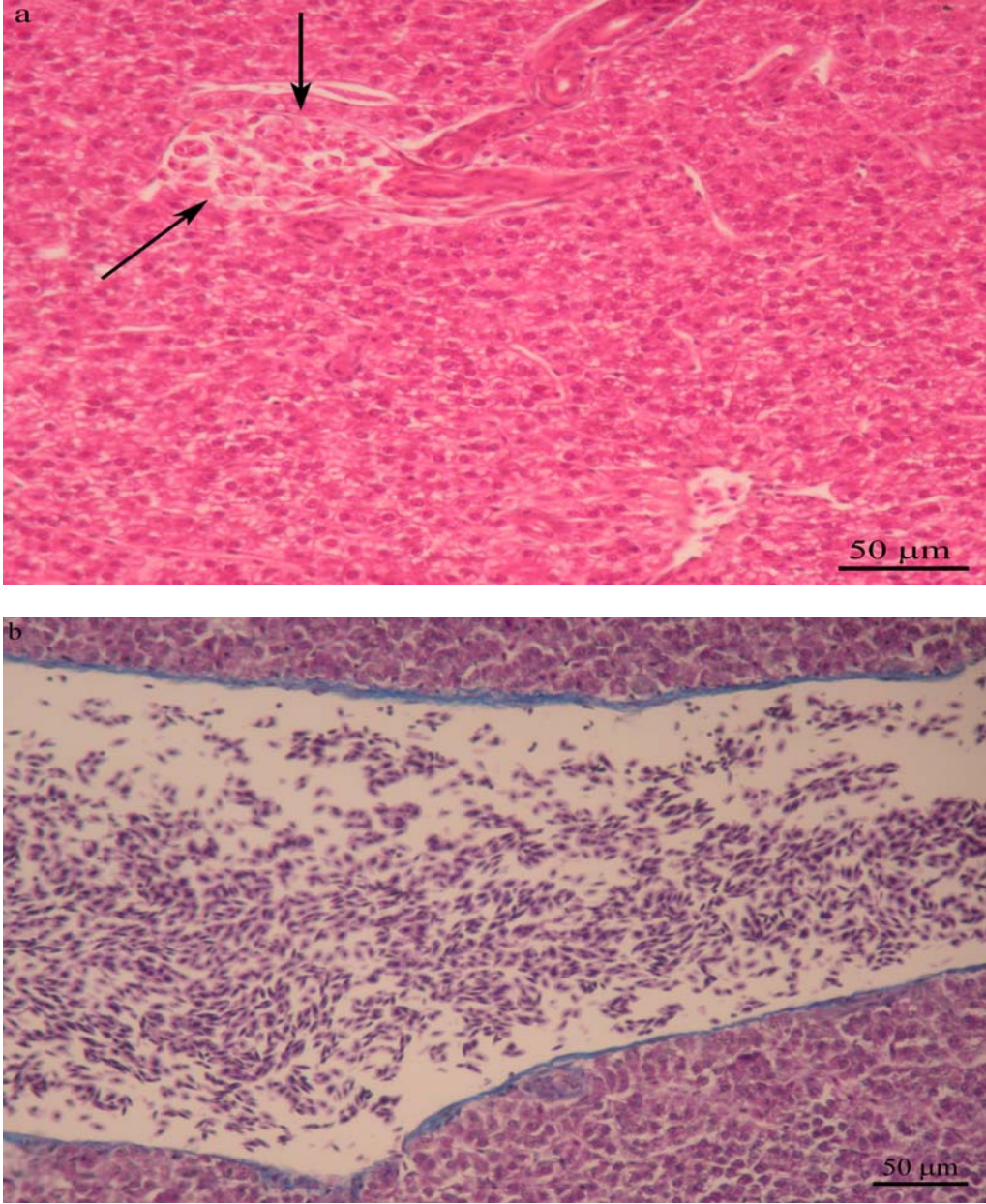
Şekil 4.8. a ve b metil parationun 4.28 mg/L konsantrasyonuna maruz bırakılan inci kefali karaciğer dokusundan alınan kesitlerde karaciğer hücrelerinde gözlenen yağ damlaları (→). (a: H-E ve b: M-T)



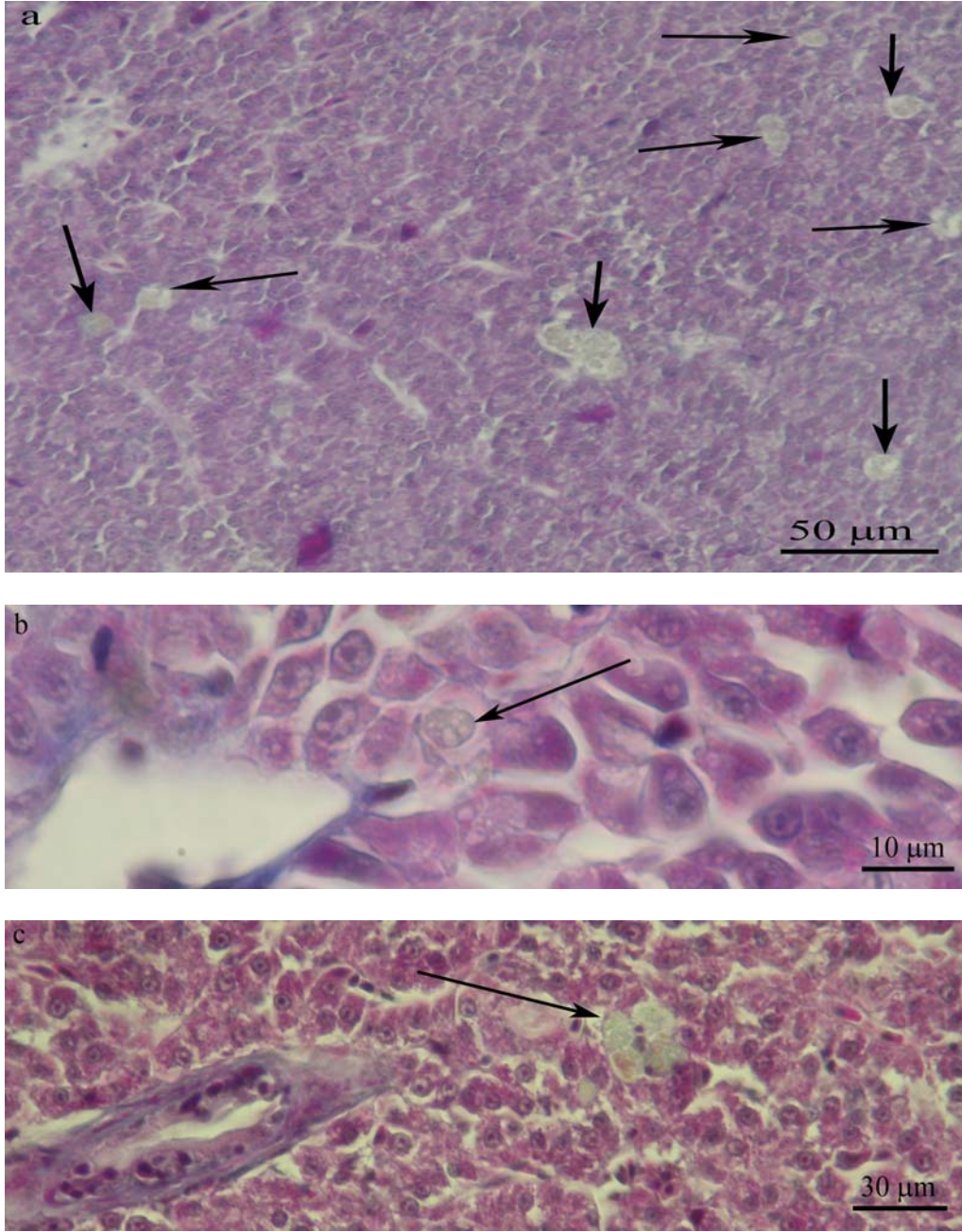
Şekil 4.9. Metil parationun 4.28 mg/L konsantrasyonuna maruz bırakılan inci kefalinden alınan karaciğer kesitlerinde gözlenen, a ve b) kan damarı etrafında gözlenen hipertrofi olmuş hücre grupları (→). (a: H-E; b: M-T)



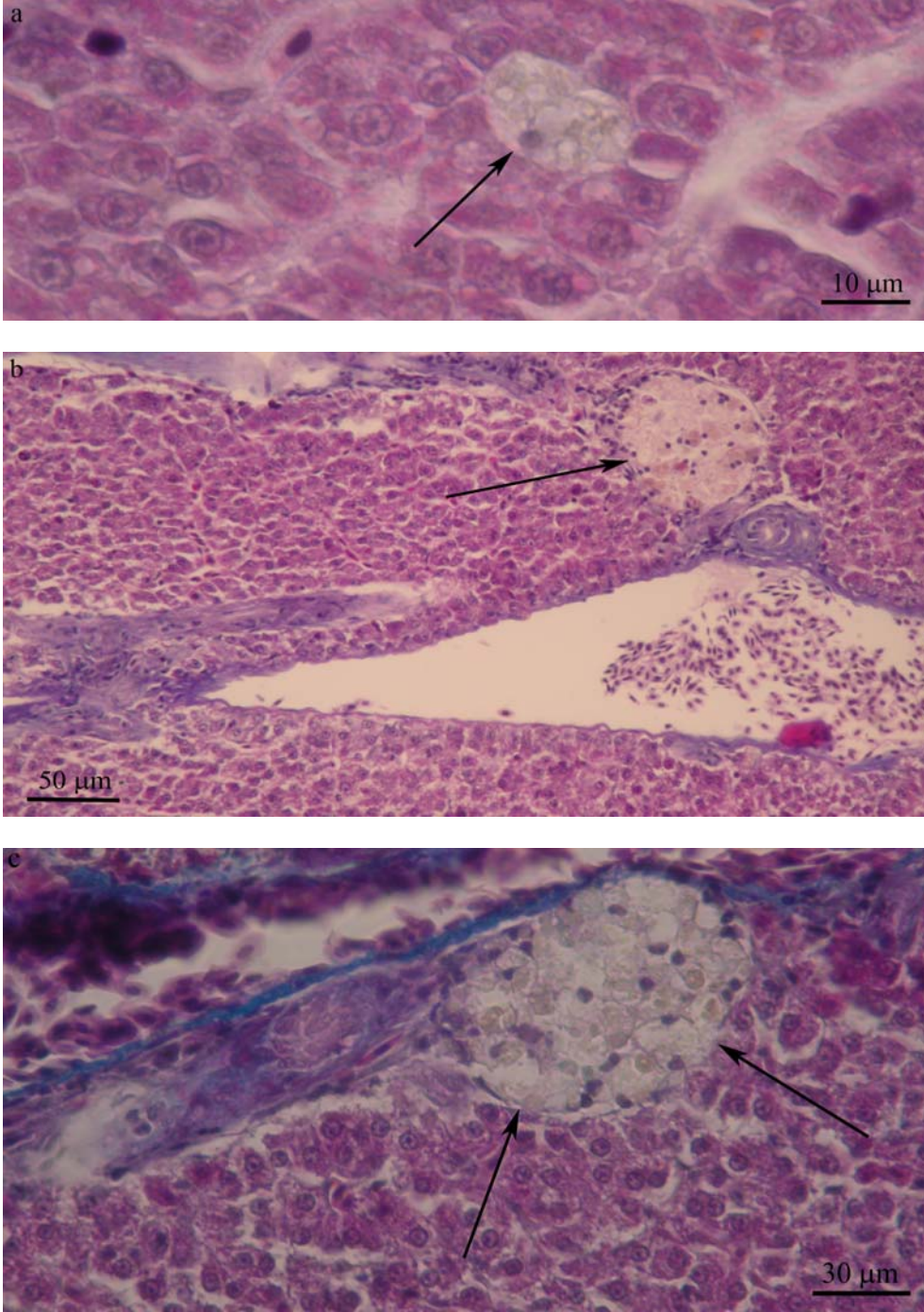
Şekil 4.10. Metil parationun 4.28 mg/L konsantrasyonuna maruz bırakılan inci kefalinden alınan karaciğer kesitlerinde gözlenen, a) lobül içerisinde gözlenen hipertrofi olmuş hücre grupları (→) ve b) eozinofilik hücre grubu (*). (a ve b: H-E)



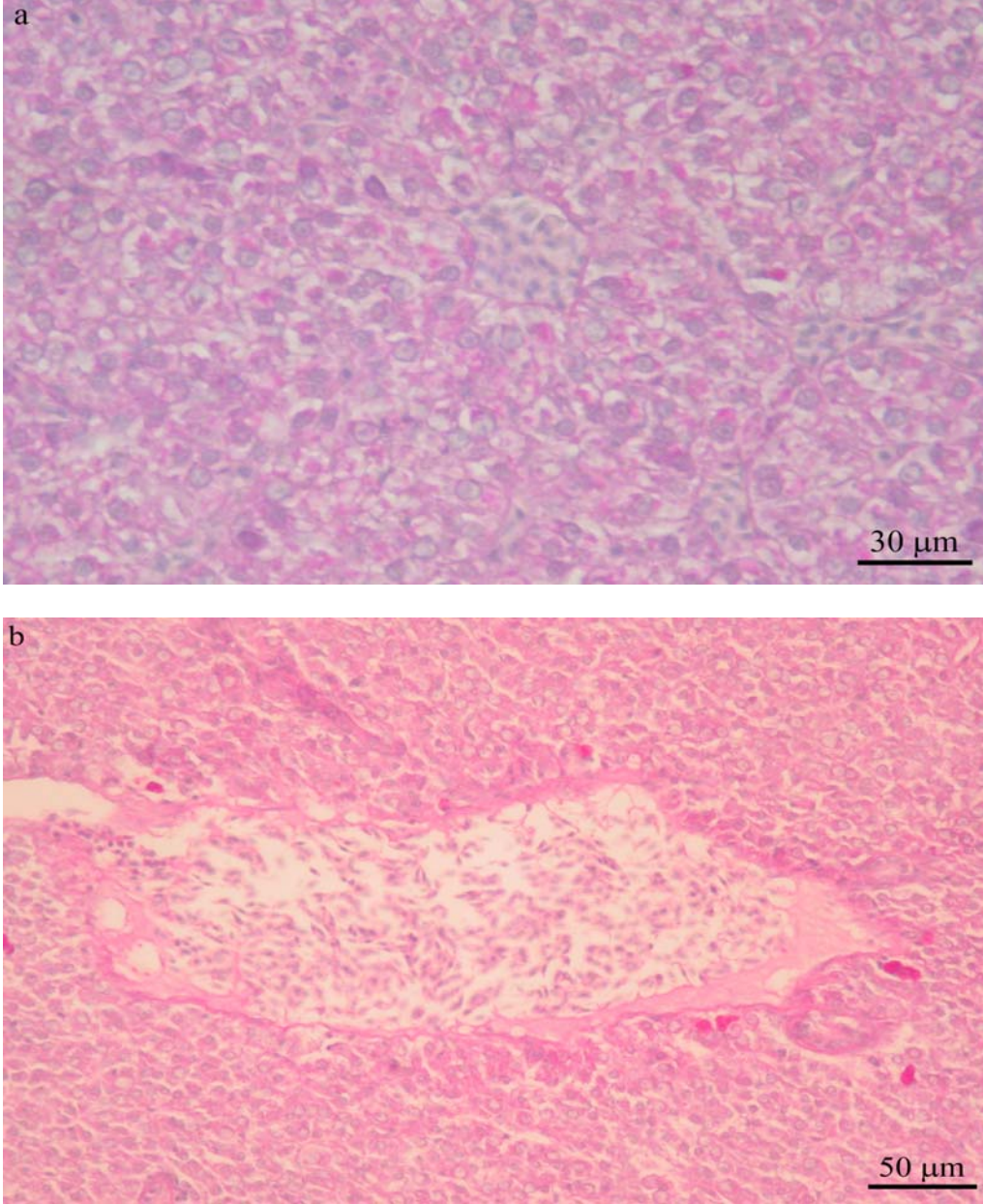
Şekil 4.11. Metil parationun 4.28 mg/L konsantrasyonuna maruz bırakılan inci kefalı karaciğer dokusunda genişlemiş, a) sinuzoid (→) ve b) portal damar görüntüleri. (a: H-E; b: M-T)



Şekil 4.12. Metil parationun 4.28 mg/L konsantrasyonuna maruz kalan inci kefali karaciğer dokusundan alınan kesitlerde görülen sarı renkli damlalar ve kistik yapılar. a) Hepatositler arasında dağınık olarak görülen sarı renkli yapıların genel görüntüsü (→); b) Hepatositler arasında görülen sarı renkli tek bir yapı (→); c) Hepatositler arasında görülen daha büyük sarı renkli bir yapı (→). (M-T)



Şekil 4.13. Metil parationun 4.28 mg/L konsantrasyonuna maruz kalan inci kefalı karaciğer dokusundan alınan kesitlerde, a) Hepatositler arasında görülen daha büyük sarı renkli bir yapı (→); b) Hepatositler arasında, genişlemiş kan damarına yakın alanda görülen ve kist içerisine alınmış sarı renkli bir yapı (→); c) sarı renkli kistik bir yapının büyük büyütme görüntüsü (→). (M-T)

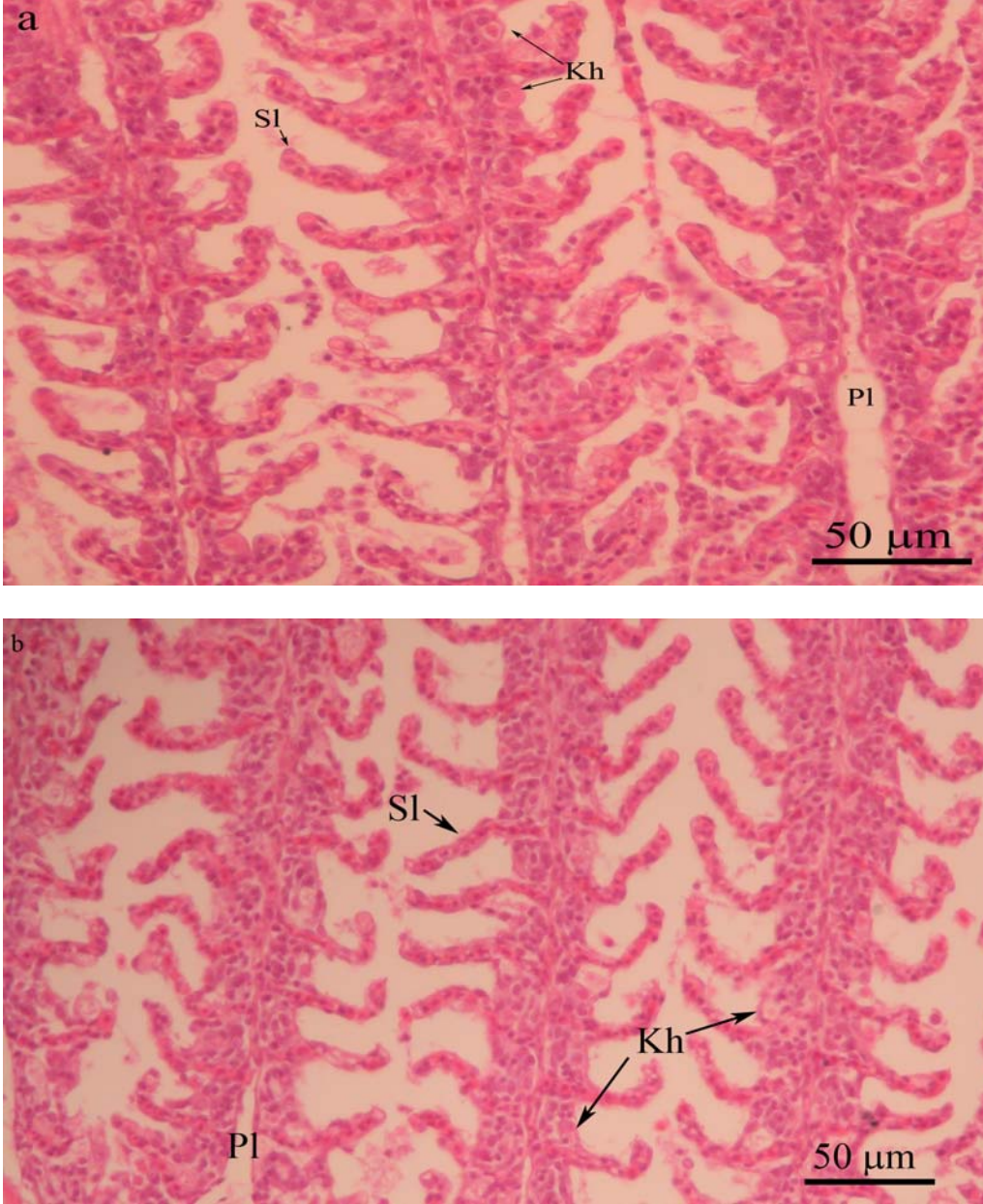


Şekil 4.14. İnci kefal karaciğerinden alınan kesitlerde hepatositlerde glikojen içeriğinin gösterilmesi. a) kontrol grubu balıkların karaciğerinden alınan kesitlerin ve b) Metil parationun 4.28 mg/L konsantrasyonuna maruz bırakılan balıkların karaciğer dokusundan alınan kesitlerin görüntüsü. (PAS)

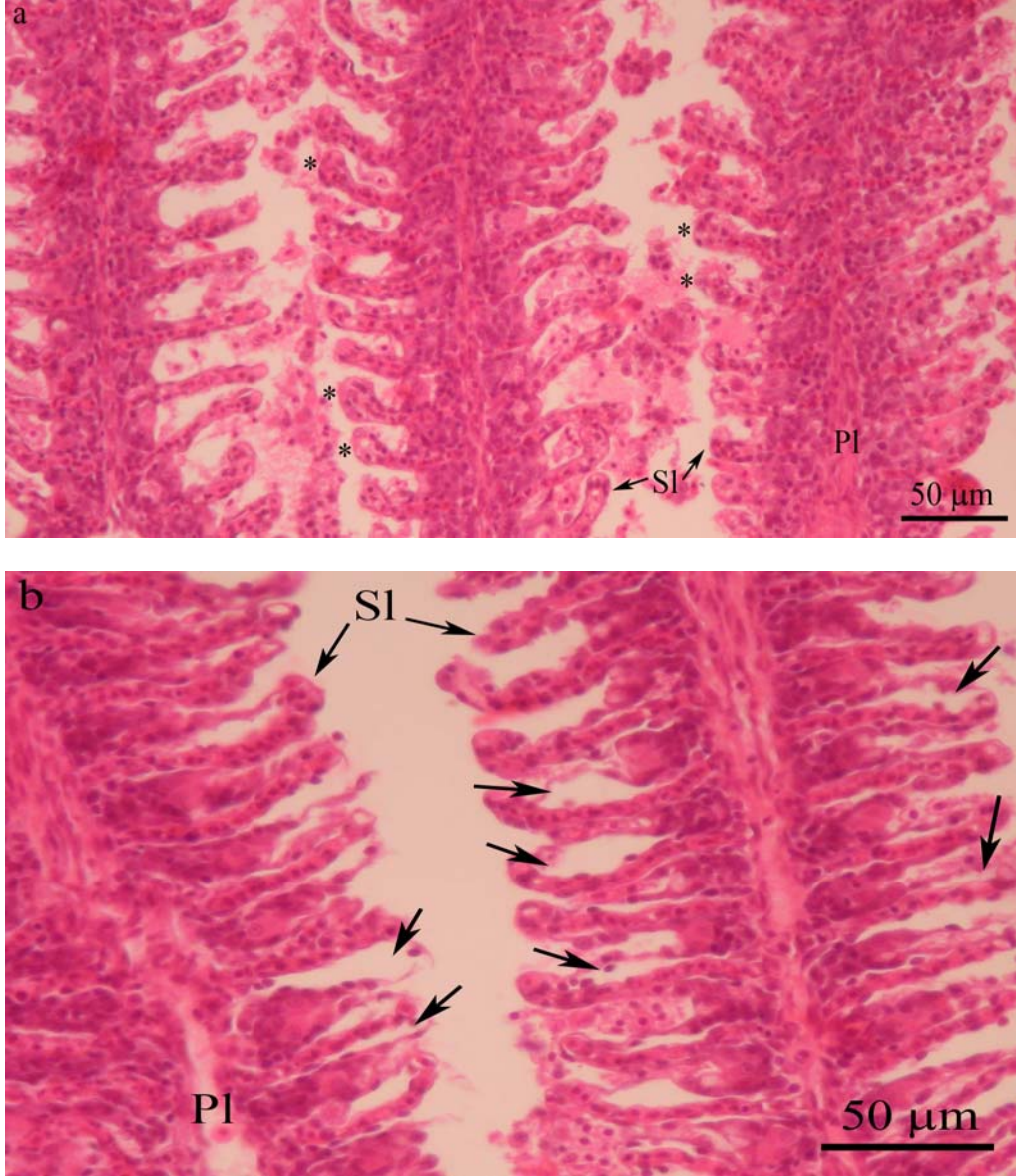
Solungaç dokusu: Diğer balıklarda olduğu gibi inci kefalinde de kıkırdak dokudan oluşan 4 çift solungaç kemeri veya yayı, her bir kemerden çıkan primer

flament ve primer flamentlerin iki tarafından sekonder veya solunum lamelleri çıkar (Şekil 4.15a ve b). Primer lameller çok tabakalı epitel ile çevrilir ve yüzeyde klorid hücreleri bulunur. Solunum lamellerin yüzeyi tek tabakalı yassı epitel ile çevrilir. Epitelin altında sinüzoidleri çevreleyen pillar hücreler bulunur (Takashima ve Hibiya, 1995) (Şekil 4.15a ve b). Kontrol ve DMSO kontrol balıklar arasında belirgin bir fark görülmedi (Şekil 4.15a ve b).

MP uygulanan bazı balıklarda primer lamelleri çevreleyen çok tabakalı epitel doku tabakasında belirgin bir artış olduğu ve bu artışın bazı balıklarda solunum lamellerinin ucuna kadar ulaştığı gözlemlendi (Şekil 4.16a). Bu balıkların çoğunda, solunum lamellerin uç kısımlarının kıvrılarak tokmak şeklinde yapılar oluşturduğu gözlenirken bazı balıklarda bu lamelleri çevreleyen epitel tabakanın sinüzoidten ayrıldığı belirlendi (Şekil 4.16b).



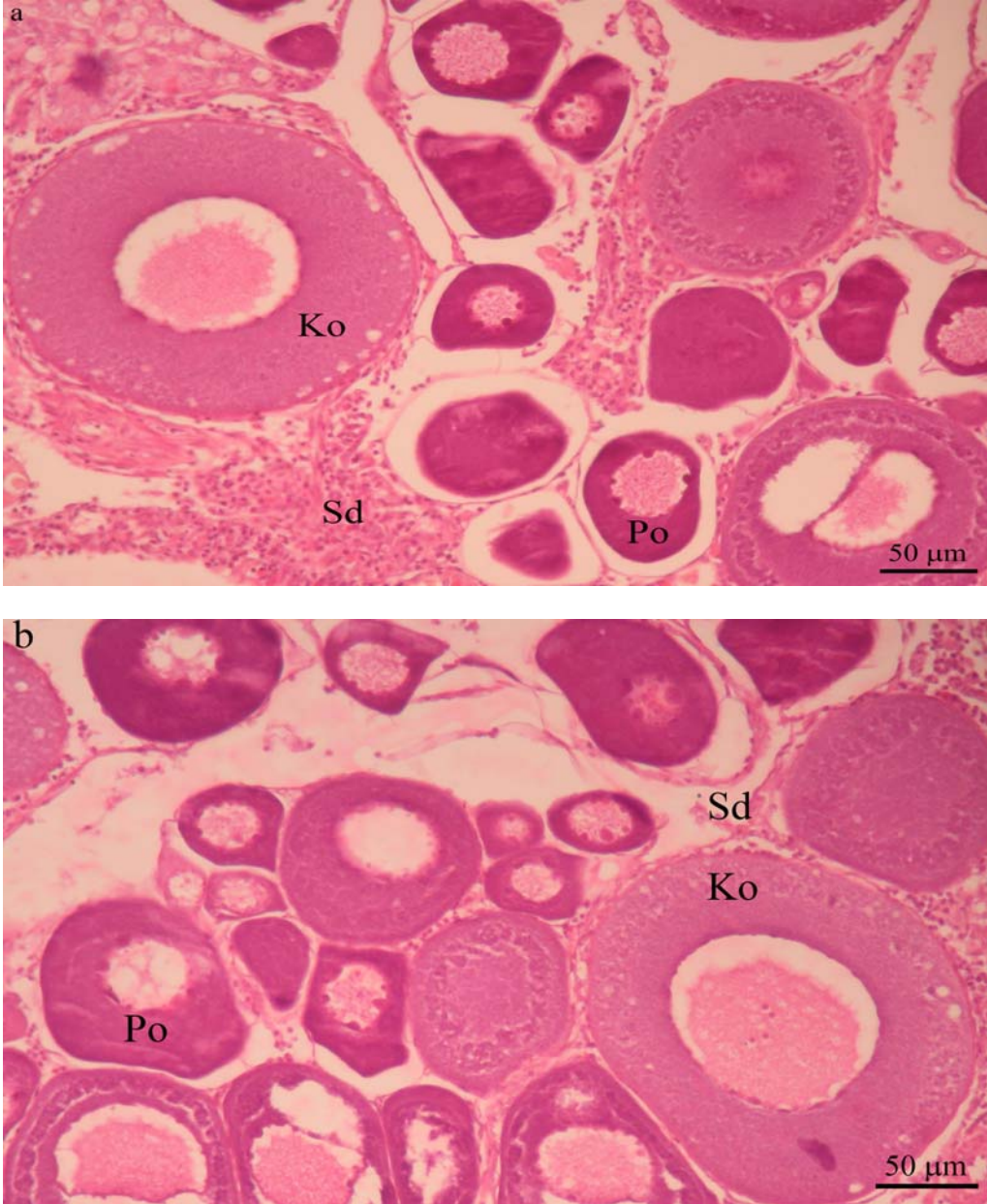
Şekil 4.15. İnci kefalinde a) kontrol ve b) DMSO kontrol grupların solungaç kesitleri. Pl: primer lamella; Sl: sekonder lamella; Kh: klorid hücre. (H-E)



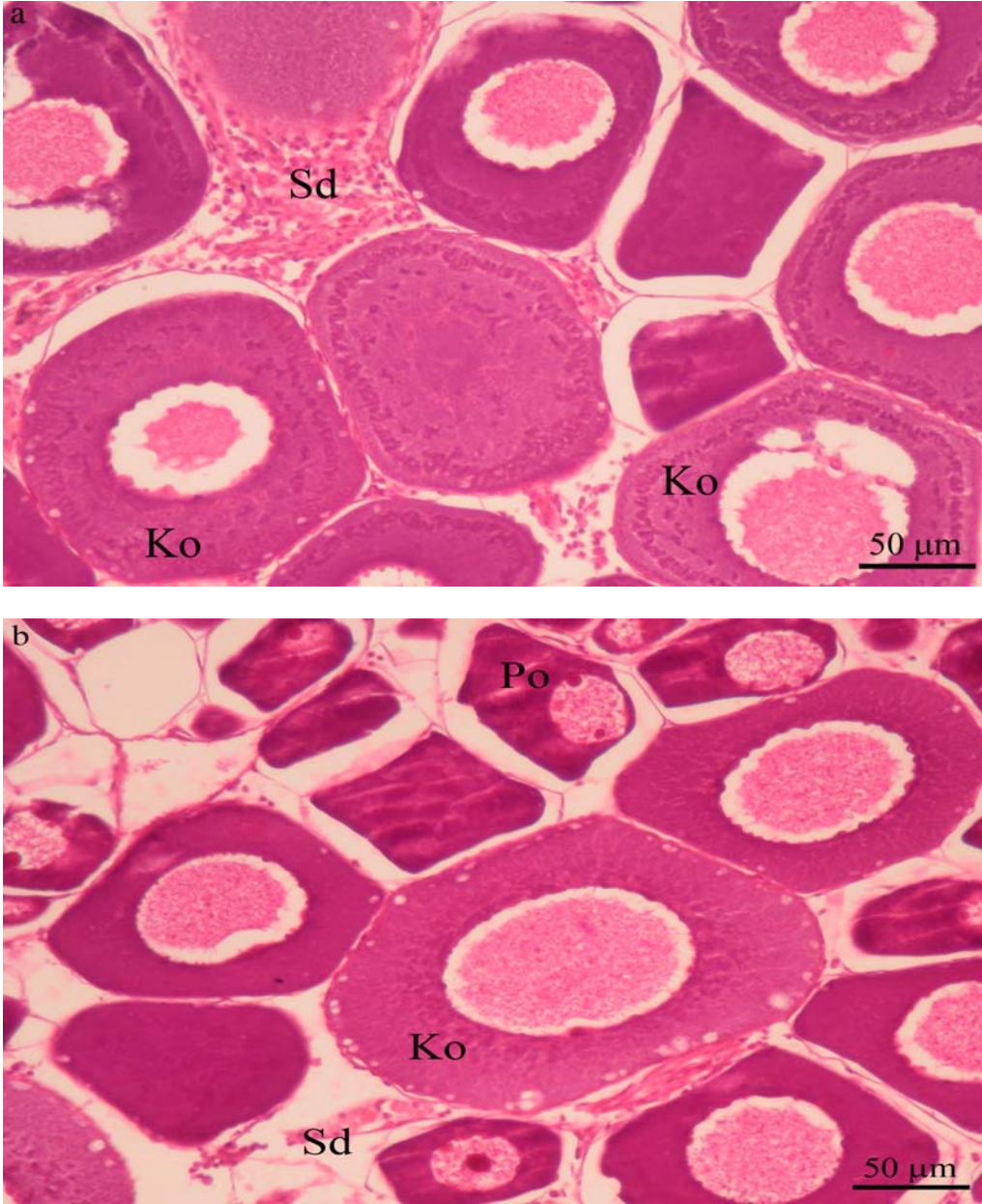
Şekil 4.16. Metil parationun 4.28 mg/L konsantrasyonuna maruz kalan inci kefalı solungaçlarından alınan kesitler. a) primer lamelleri (Pl) çevreleyen epitel dokuda kalınlaşma, sekonder lamelleri (Sl) uç kısımlarındaki kıvrılma ve tokmak şeklindeki yapılar (*) ve b) bazı primer lamellerde epitel dokunun sinuzoitlerden ayrılması (→). (H-E)

Ovaryum dokusu: Kontrol, DMSO kontrol ve MP uygulanan balıkların ovaryumlarında morfolojik olarak belirgin bir farkın olmadığı gözlemlendi. Balıkların hepsinde oosit gelişmesinin kortikal alveolar faza yeni girdiği belirlendi (Şekil

4.17a ve b; Şekil 4.18a ve b). Grup-senkronize tip olan ovaryumda nukleokromatin ve perinuklear fazlarda genç oositler de kolaylıkla ayırt edilebilmektedir (Şekil 4.17a ve b; Şekil 4.18b).



Şekil 4.17. İnci kefalinde, a) kontrol ve b) DMSO kontrol gruplarının ovaryumlarından alınan kesitler. Ko: kortikal alveolar oosit; Po: perinuklear oosit; Sd: stromal doku. (H-E)

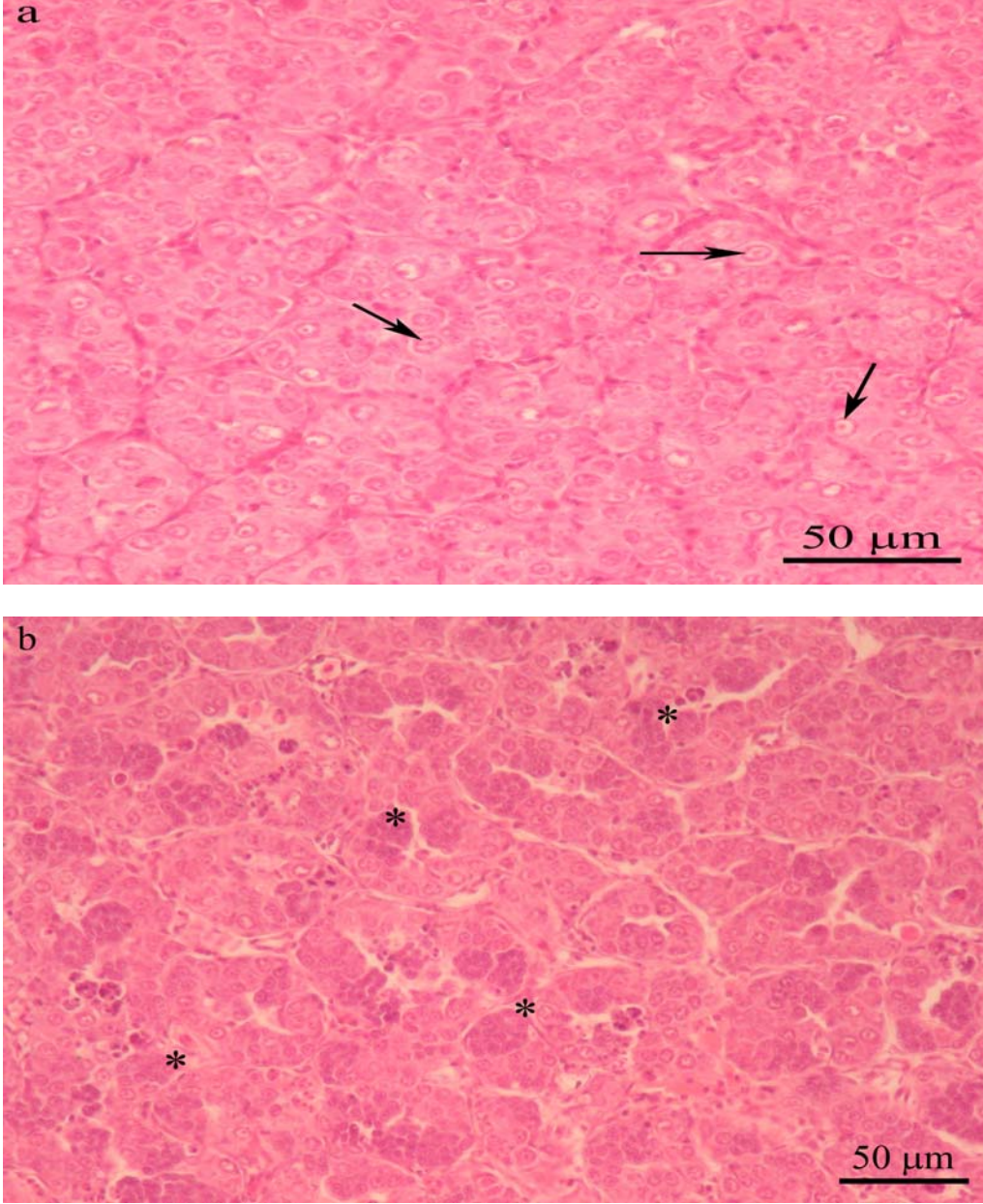


Şekil 4.18. Metil parationun 4.28 mg/L konsantrasyonuna maruz bırakılan inci kefalı ovaryumlarından alınan kesitler, a ve b. Ko: kortikal alveolar oosit; Po: perinuklear oosit; Sd: stromal doku. (H-E)

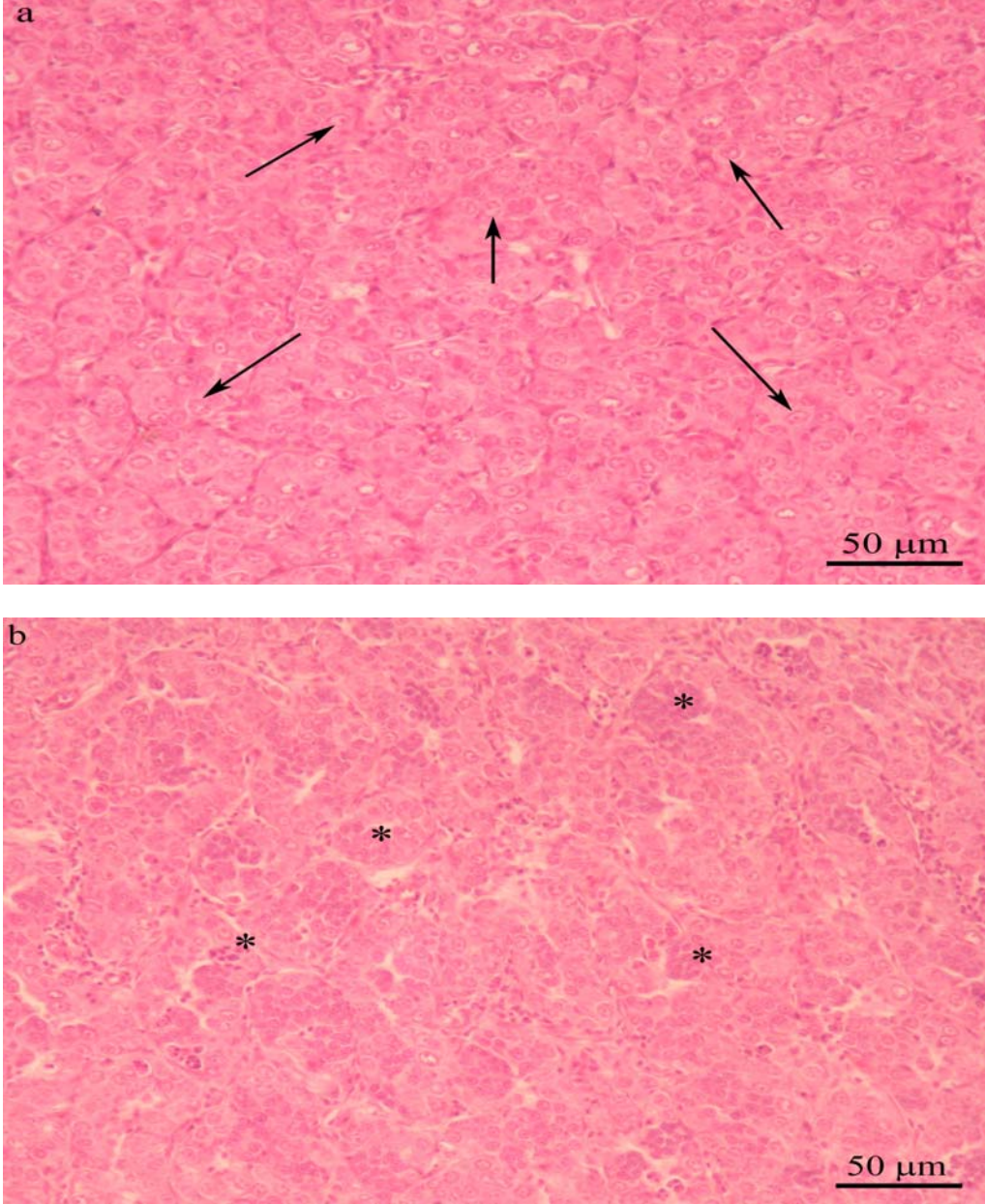
Testis dokusu: Kontrol ve DMSO kontrol balıkların testisinden alınan kesitlerinde bazı balıkların olgunlaşmamış testislere sahip olurken (Şekil 4.19a; Şekil 4.20a), bazı balıkların olgunlaşma safhasına yeni girdiği, yani primordial

spermatogonial hücrelerin mitotik faza girdiği belirlendi (Şekil 4.19b; Şekil 4.20b).

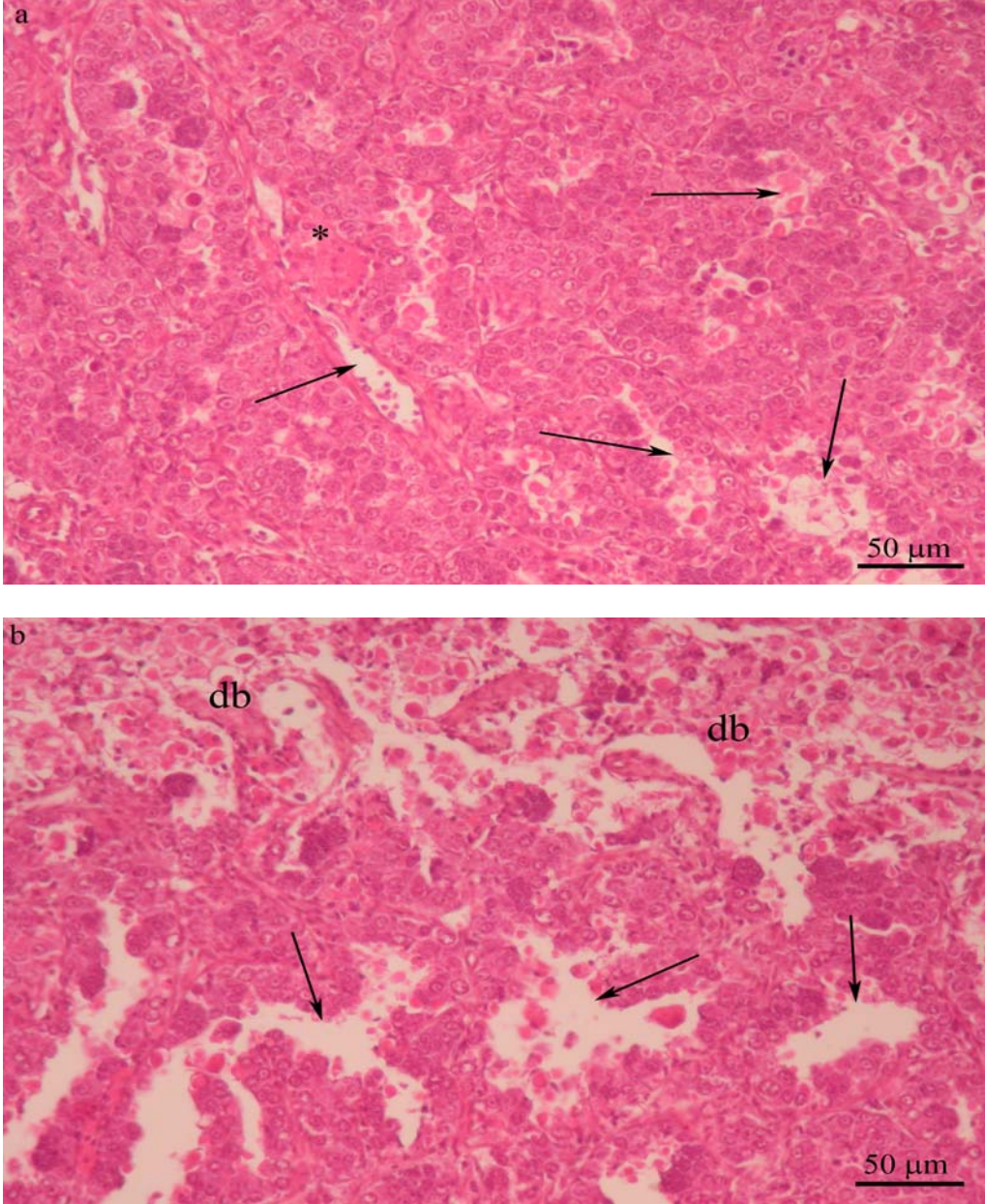
MP uygulanan bazı balıklarda testiste intersititiyal dokuda fazla miktarda kanlanmaların olduğu ve folikül içerisindeki hücreler bozularak koyu damlaların şekillendiği ve folikül lumeninin genişlediği belirlendi (Şekil 4.21a). Bazı balıklarda ise folikül lumeninde görülen benzer genişlemenin yanında testiste bölgesel olarak bütün dokunun bozulduğu tespit edildi (Şekil 4.21b). Bu balıklarda aynı zamanda intersititiyal dokuda kanlanmaların olduğu da gözlemlendi. Bazı balıkların testislerinde bazı seminifer foliküllerin içerisindeki hücrelerin tamamının yok olduğu ve foliküllerin sıvı ile dolduğu, bazı foliküllerin birleşerek büyük boşlukları şekillendirdiği gözlemlendi (Şekil 4.22a ve b). Aynı zamanda bu balıklarda intersititiyal dokuda görülen kanlanmaların çok daha fazla olduğu belirlendi (Şekil 4.22a ve b). Testislerinde spermatogenezin mitotik fazı başlamayan balıkların foliküler yapılarında herhangi bir bozulma gözlenmezken foliküller arasında çok sayıda eozinofilik yapıda hücre gruplarının varlığı gözlemlendi (Şekil 4.23a). Testis dokusunun bazı bölgelerinde bu eozinofilik yapıların kist içerisine alındığı da gözlemlendi (Şekil 4.23b).



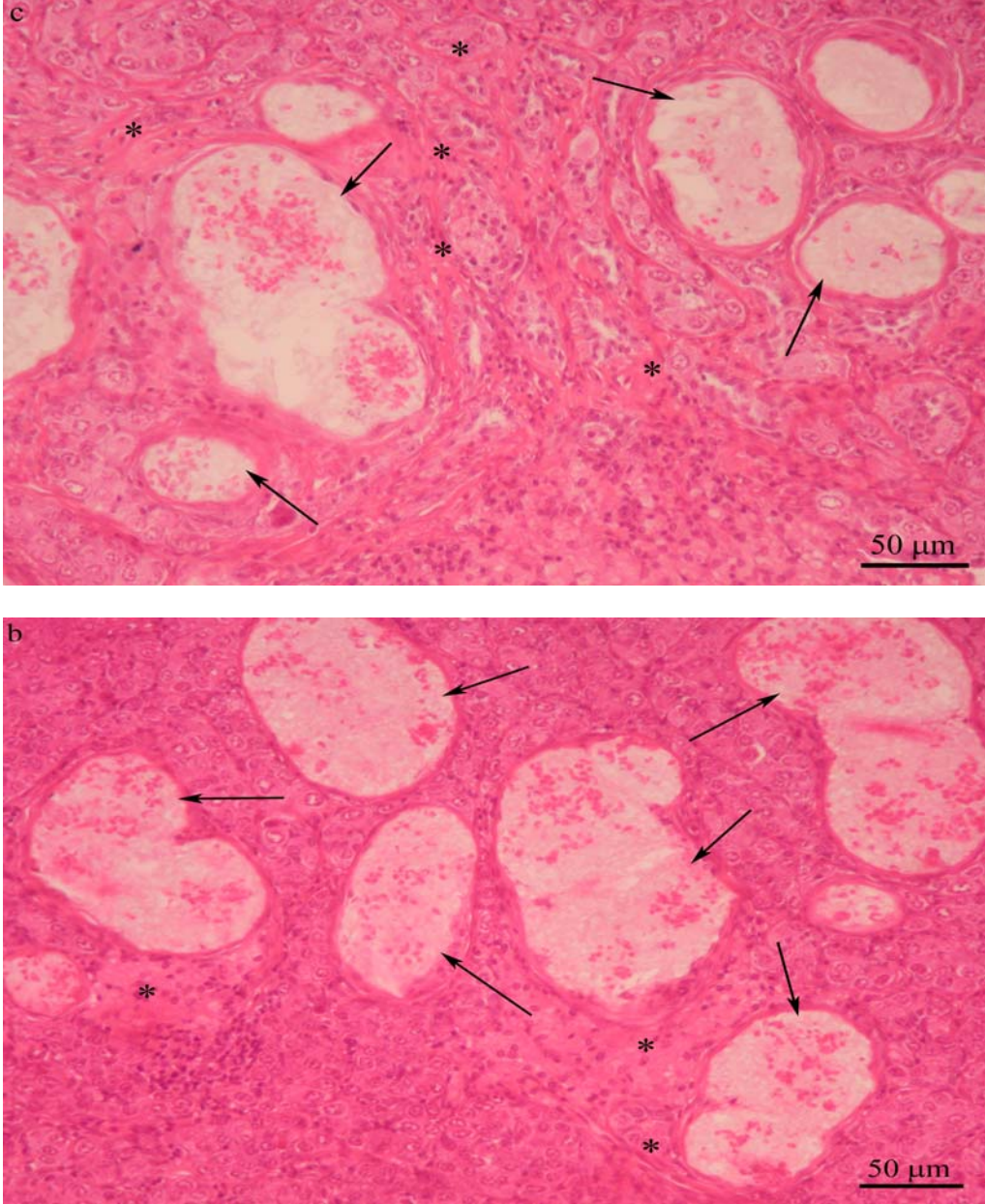
Şekil 4.19. İnci kefalinde kontrol grubunda testislerden alınan kesitler. a) olgunlaşmamış safhadaki testis, primordial germ hücreler (→) ve b) olgunlaşma safhasındaki testis görüntüsü, mitotik hücre grupları (*). (H-E)



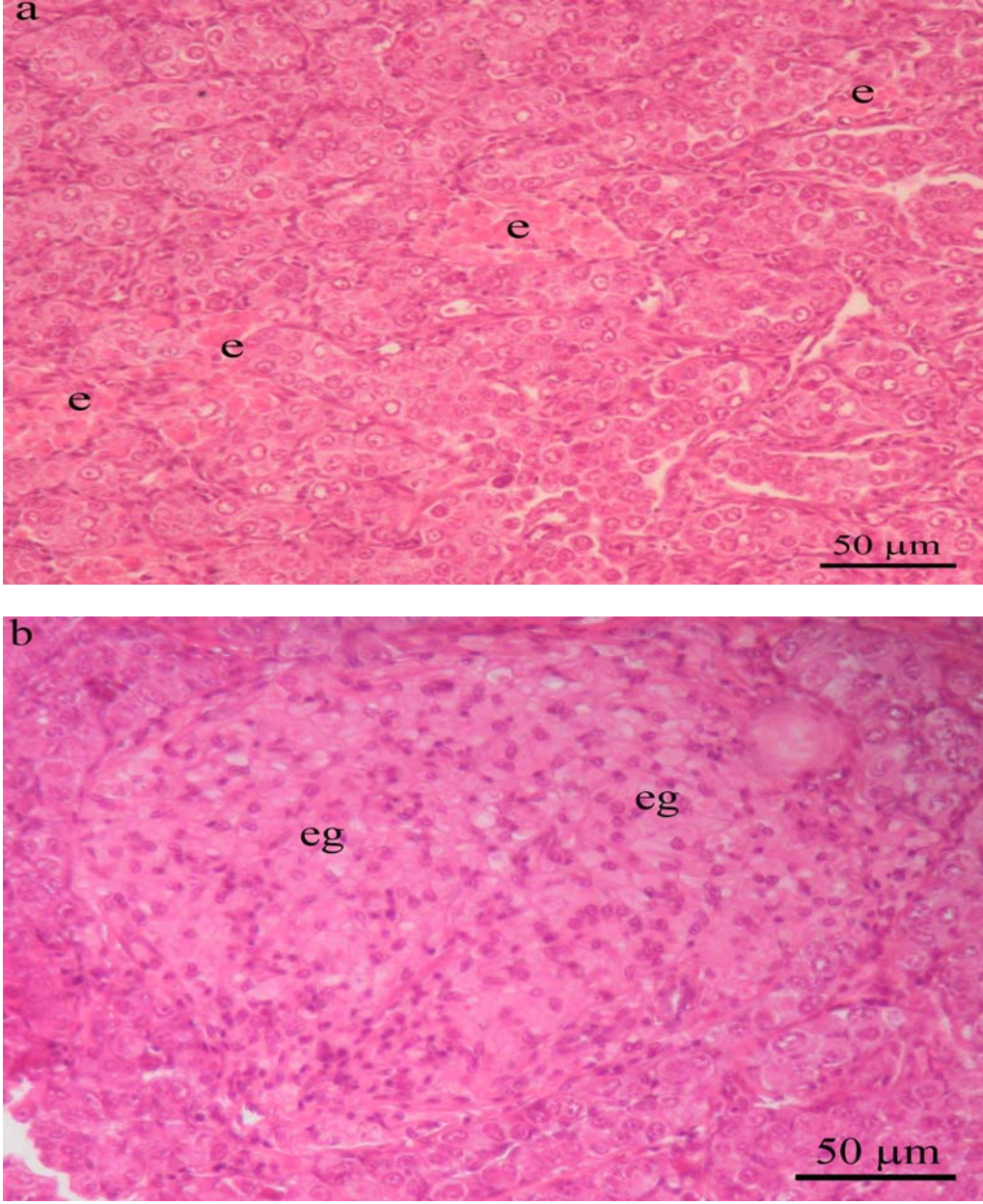
Şekil 4.20. İnci kefalinde DMSO kontrol grubunda testislerden alınan kesitler. a) olgunlaşmamış safhadaki testis, primordial germ hücreler (→) ve b) olgunlaşma safhasındaki testis görüntüsü, mitotik hücre grupları (*). (H-E)



Şekil 4.21. İnci kefalinde 4.28 mg/L metil paration uygulanan, a ve b) testiste seminifer folikül lumeninde ve dokuda görülen bozulmalar (→), eozinofilik yapı (*), doku bozulması (db). (H-E)



Şekil 4.22. İnci kefalinde 4.28 mg/L metil paration uygulanan, a ve b) seminifer folikül lumeninin genişlemesi ve birleşmiş seminifer foliküller (→), intersititiyal dokuda kanlanma (*). (H-E)



Şekil 4.23. İnci kefalinde 4.28 mg/L metil paration uygulanan, a) testiste görülen eozinofilik hücre grupları (e), b) kist içerisine alınmış eozinofilik bir hücre grubu (eg). (H-E)

4.2.5. Asetilkolinesteraz ve Butirilkolinesteraz Aktivitesi

Kronik deneme sonucunda balıklardan alınan kas, beyin ve karaciğer dokularında ölçülen AChE ve BChE aktiviteleri Çizelge 4.9’da verildi. Buna göre, uygulanan 4.28 mg/L MP konsantrasyonunda AChE aktivitesinin kas ve karaciğer dokusunda değişmediği ($P>0.05$) ancak beyin dokusunda önemli bir azalmanın olduğu ($P<0.05$) belirlendi. Bununla birlikte BChE aktivitesinin kas, beyin ve karaciğerde değişmediği ($P>0.05$) tespit edildi.

Çizelge 4.9. İnci kefalinde metil paration kronik deneme sonunda balıklardan alınan kas, beyin ve karaciğer dokularında belirlenen asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) aktiviteleri. Ortalama±standart hata. ($P<0.05$) (verilere $\sqrt{x+1}$ transformasyonu yapıldı, Düzgüneş ve ark., (1987)). Analiz için 6 balık kullanıldı.

Dokular	MP Konsantras-yonu (mg/L)	Enzimler	
		AChE (EU/g doku)	BChE (EU/g doku)
Kas	0.00	1.0133±0.0053 ^a	1.0049±0.0020 ^a
Kas	952.04 (DMSO)	1.0140±0.0087 ^a	1.0037±0.0031 ^a
Kas	4.28	1.0128±0.0074 ^a	1.0060±0.0036 ^a
Beyin	0.00	1.4005±0.1343 ^a	1.0070±0.0027 ^a
Beyin	952.04 (DMSO)	1.3744±0.1608 ^a	1.0058±0.0034 ^a
Beyin	4.28	1.1770±0.0774 ^b	1.0050±0.0014 ^a
Karaciğer	0.00	1.0951±0.0147 ^a	1.0061±0.0009 ^a
Karaciğer	952.04 (DMSO)	1.0906±0.0075 ^a	1.0066±0.0005 ^a
Karaciğer	4.28	1.0557±0.0052 ^a	1.0062±0.0003 ^a

a ve b Duncan çoklu karşılaştırma testine göre, metil paration konsantrasyonuna bağlı olarak doku grupları arası, ortalama değerlerinin farklılıklarını ifade etmektedir, aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir ($p>0.05$).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada; Van ilinde tarımsal mücadelede en fazla kullanılan tarım ilaçlarından biri olan, OP'li pestisitlerden MP'nin inci kefaline (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811) akut ve kronik toksisitesi araştırılmıştır. Denemelerde, doğal ortamdan canlı olarak yakalanan ve deneme şartlarına alıştıırılan inci kefalleri kullanıldı.

Akut deneme sırasında total sertlik (CaCO_3) 360 mg/L, total alkalinite (CaCO_3) 540 mg/L ve ortalama $\text{EC}_{(25)}$ 874 $\mu\text{mhos/cm}$ olan, sıcaklık 17.3 °C, pH 8.37, ÇO 4.61 mg/L ve ÇOS % 60.8 mg/L olarak ölçüldü. Akut deneme statik biyo-deney yöntemi ile 96 saat devam etti. LC_{50} ve LT_{50} için ölümler, EC_{50} için denge kaybı, anormal yüzme, kabın dibine düşme ve ağır solunum bozukluğu esas alındı. Parametreler ve güven sınırları probit analiz yöntemiyle hesaplandı (Anonim, 1995; Ünsal, 1998; Çetinkaya, 2005). Ayrıca MP'ye maruz bırakılmış balıkların sergiledikleri davranış değişimleri ile morfolojik farklılaşmalar gözlemlendi.

Akut deneme boyunca suda yapılan ölçümler değerlendirildiğinde su kalitesi kriterlerinin standart bio-deney koşullarını (Anonim, 1995; Ünsal, 1998; Çetinkaya, 2005) tam olarak sağladığı görülmektedir. Öte yandan denemede kullanılan suyun kalitesi daha önce belirlenen türün yaşama habitatları ve ekolojik istekleri ile de (Çetinkaya ve ark., 1994; Oyar, 2000) uyum içindedir. Dolayısıyla deneme sırasında kaydedilen balık ölümlerinin su sıcaklığı, çözünmüş oksijen, çözünmüş oksijen saturasyonu ve pH gibi parametrelerin değişiminden değil MP konsantrasyonuna bağlı olduğu sonucuna varılabilir.

MP'ye maruz bırakılan bireylerde gözlemlenen morfolojik değişmeler düzensiz solunum, denge kaybı, hareketlerde yavaşlama, kramp benzeri davranışlar, suyun yüzeyine ani sıçrama hareketi, balıkların baş ve kuyruk kısmının dorsa-ventral veya lateral olarak bir yay gibi kıvrılması, kendi ekseninde

daireysel hareketler çeşitli insektisit veya kimyasala maruz bırakılan birçok balık türünde de (Murty ve ark., 1984; Rao ve Rao 1984b; da Silva ve ark., 1993; Machado ve Fanta 2003) gözlenmektedir. Bu semptomların MP'nin vücutta AChE aktivitesini engellemesi ve asetil kolin ile sinir uyarımlarının iletilmemesinden kaynaklandığı ifade edilmektedir.

MP'nin su sistemlerinde hidrolizinin pH'ya bağlı olduğunu, yarılanma ömrünün 25 °C'de pH 5'te 68 gün, pH 7'de 40 gün, pH 9'da 33 gün arasında değiştiği, fotoliz açısından 40 derece enlemde bulutsuz havada ve suyun üst tabakasında çevresel yarılanma ömrünün 9 gün olduğu, deniz suyu, göl ve akarsularda hızla yıkıma uğrayarak 2-4 hafta içinde % 100'ü parçalanabildiği, yıkımın (degradasyon) sedimentte sudan, tatlı suda ise deniz suyundan daha hızlı gerçekleştiği bildirilmiştir (Anonim, 1994; Anonim, 1996; Anonim, 2001; Anonim, 2007).

MP'nin yüksek pH'da daha kolay parçalanması, inci kefalinin doğal yaşama alanı olan akarsular ve Van Gölü'nde pH değerinin 8-9.8 arasında değişmesi bu tür için bir avantaj oluşturmaktadır. Çünkü sulara giren MP daha hızlı parçalanarak etkisi azalacaktır. MP parçalandığında ortaya çıkan metabolitleri de değişen düzeylerde toksik olmakla birlikte (Moctezuma ve ark., 2007; Edwards ve Tchounwou, 2005) bunların ortamda hangi konsantrasyona kadar ulaştıkları ve balıkların bu metabolitlere alışıp alışmadıkları bilinmemektedir.

MP için diğer bazı balık türlerinde belirlenen LC₅₀ değerleri Çizelge 5.1'de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde tatlı su balıkları için MP LC₅₀ değerlerinin, dolayısıyla balıkların MP'ye karşı toleranslarının çok geniş bir aralıkta değiştiği görülmektedir. Anonim (2008c)'de verilen, çeşitli insektisitlerin akuatik organizmalar üzerindeki toksisite çalışmalarında elde edilen LC₅₀ değerlerine göre yapılan, insektisitlerin toksisite sınıflandırmasına göre; bu çalışmada elde edilen 96 saat LC₅₀ 11.44 mg/L değeri dikkate alındığında MP'nin inci kefaline olan toksisitesinin orta derecede olduğu söylenebilir.

Çizelge 5.1. Çeşitli tatlı su balık türleri için farklı saflıktaki metil parationun 96 saat LC₅₀ değerleri, güven sınırları ve değerlendirmeler (Anonim, 2008c'den kısaltılarak ve bu çalışma)

Test edilen balık türü	MP'nin saflığı (%)	LC ₅₀ (mg/L)	Güven sınırları	Toksisite
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (<i>Salmonidae</i>) gökkuşuğu alabalığı	90	3.7	3.13-4.38	Orta
<i>Lepomis macrochirus</i> (<i>Centrarchidae</i>) mavi solungaç	80	2.4	-	Orta
<i>Pimephales promelas</i> (<i>Cyprinidae</i>) golyan, yağlı baş sazan	80	9.5	-	Orta
<i>Carassius auratus</i> (<i>Cyprinidae</i>) Japon balığı	90	9.0	8.1-9.9	Orta
<i>Cyprinus carpio</i> (<i>Cyprinidae</i>) adi sazan	90	7.13	6.44-7.87	Orta
<i>Ictalurus melas</i> (<i>Ictaluridae</i>)	90	6.64	4.97-8.88	Orta
<i>Gambusia affinis</i> (<i>Poecilidae</i>) sivrisinek balığı	99	13.48	13.2-13.7	Orta
<i>Chalcalburnus tarichi</i> (<i>Cyprinidae</i>) inci kefali	80	11.44	10.68-12.27	Orta

İnci kefalinin kendisiyle aynı familyaya mensup türlerden sazan, yağlı baş sazan ve Japon balığı (altın balık) ile kıyaslandığında MP için daha yüksek bir LC₅₀ değeri göze çarpmaktadır (% 80 saflıkta MP'nin inci kefalinde, 96 saat LC₅₀ 11.44 mg/L (10.68-12.27)). Bu sonuç inci kefalinin MP'ye karşı aynı familya üyelerinden daha toleranslı olduğunu göstermektedir. Ancak diğer denemelerin yapıldığı su kalitesi şartları bilinmemektedir. Bu denemede ise suyun pH değerinin 8.37 olması MP'nin daha çabuk parçalanmasına ve böylece toksik etkisinin daha kısa sürede azalmasına neden olabilir. Nitekim akut denemede asıl ölümler 1-3 gün içinde gerçekleşmiş, bu sürede ölmeyen balıklar sonraki günlerde

yaşamaya devam etmişlerdir. Güvenli konsantrasyonu belirlemede LC₅₀ değeriyle çarpılmak üzere pestisitler için daha çok 0.01 değeri kullanıldığından (Anonim, 1995) bu çalışmada da güvenli konsantrasyonun belirlenmesinde 0.01 ile çarpılmıştır. Buna göre güvenli konsantrasyon 0.1144 mg/l MP bulundu.

MP'nin 6.45 mg/L konsantrasyon ve üzeri inci kefali için toksik bir değerdir. 96 saat LC₅₀ 11.44 mg/L ve 24 saat EC₅₀ 6.89 mg/L olarak belirlendi. İnci kefalinin bir çok balık türüne göre MP toksisitesine daha dayanıklı olduğu görülmektedir. Akut denemede uygulanan 7.97-15.00 mg/L MP konsantrasyonları için LT₅₀ değerinin 28.14-289.29 saat arasında değiştiği belirlendi.

Kronik denemede, 0.00-6.11 mg/L arasında MP içeren, total sertlik (CaCO₃) 344 mg/L, total alkalinite (CaCO₃) 518 mg/L ve ortalama EC₍₂₅₎ 882 µmhos/cm olan, sıcaklık 17.9 °C, pH 8.46, ÇO 6.04 mg/L ve ÇOS % 81.44 olarak belirlendi. Kronik deneme yarı statik biyo-deney yöntemi ile Haziran ayında 30 günlük süre içinde gerçekleştirildi (Anonim, 1995; Ünsal, 1998; Çetinkaya, 2005). Kronik toksisite denemesinde elde edilen verilere göre; etkisi gözlemlenen en düşük konsantrasyon (LOEC), etkisi gözlenmeyen konsantrasyon (NOEC), maksimum kabul edilebilir toksikant konsantrasyonu (MATC), akut kronik oranı (ACR) parametreleri hesaplandı (USEPA, 1989; USEPA, 1991; Ünsal, 1998; OECD, 2000; Çetinkaya, 2005). Kronik denemenin sonunda balıklardan alınan kanda belirlenen hemoglobin değerlerine göre MP'nin inci kefali kan hemoglobin ve hematokrit LOEC değeri 2.10 mg/L, NOEC değeri 1.47 mg/L, MATC değeri 1.76 mg/L, ACR değeri 6.50 mg/L olarak belirlendi.

Kronik denemenin sonunda balıklardan alınan kan örneklerinde, hemoglobin (Hb), hematokrit (Hct), eritrosit (RBC) sayısı, ortalama eritrosit hacmi (MCV), eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı (MCH), eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) literatürde verilen standart yöntemlere göre (Blaxhall ve Daisley, 1973; Kocabatmaz ve Ekingen, 1977; 1984; Houston, 1990) hesaplandı. Çizelge 4.8'e göre Hb

değerlerinin kontrole göre azaldığı ($P<0.05$) ancak konsantrasyon artışına bağlı olmadığı; Hct değerinin ise 1.47 ve 3.00 mg/L konsantrasyonlarda kontroller ile benzer olduğu diğer konsantrasyonlarda azaldığı ($P<0.05$) belirlendi. Santhakumar ve ark. (1999), *Anabas testudineus* balığını OP'li monocrotophosun subletal konsantrasyonlarına (1.9-9.5 mg/L) 21 gün süreyle maruz bırakmış ve Hb değerinin her iki konsantrasyon için önemli ölçüde düştüğünü ve Hct değerinin azaldığını ancak önemli olmadığını ve John (2007), tatlı su kemikli balığı *Mystus vittatus*'un OP'li metasytosta kronik maruz bırakılması sonrası Hb yüzdesinin önemli ölçüde azaldığını ve Hct değerinin azalmasına karşın önemli olmadığını bildirmişlerdir. Farklı balık türleri üzerinde farklı pestisit gruplarının hematolojik etkilerinin belirlenmeye çalışıldığı araştırmalarda da (Kumar ve ark. (1999); Atamanalp ve Cengiz (2002); Saxena ve Seth (2002); Atamanalp ve Yanık (2003) Hb ve Hct değerlerinin düştüğü rapor edilmiştir. Benzer olarak MP'ye maruz kalan inci kefalinde de Hb ve Hct değerlerinde düşüş olduğu gözlemlendi.

Bu çalışmada, RBC sayısı ve MCV'de MP'nin uygulanan konsantrasyonları arasında fark olmadığı ($P>0.05$) hesaplandı. Santhakumar ve ark. (1999), OP'li monocrotophosuna maruz bırakılan *Anabas testudineus* balığının RBC sayısında, kimyasalın konsantrasyon artışına bağlı olarak önemli düzeyde azalmanın ve MCV'de önemli düzeyde artışın olduğunu; Kumar ve ark. (1999), deltamethrine maruz bırakılan *Heteropneustes fossilis* balığının RBC sayısında önemsiz bir artışın olduğunu; Saxena ve Seth (2002) cypermethrine maruz bırakılan *Channa punctatus* balığında konsantrasyon artışına bağlı olarak RBC sayısının azaldığını ve MCV'de azalmanın önemli olduğunu; Svobodova ve ark. (2003), deltamethrine maruz bırakılan sazan balığında RBC sayısında önemli bir azalmanın ve MCV'de önemsiz düzeyde artışın olduğunu; John (2007), tatlı su kemikli balığı *Mystus vittatus*'un OP'li metasytosta kronik maruz bırakmanın RBC sayısı ve MCV'de önemsiz bir azalmaya neden olduğunu rapor etmişlerdir.

Bu çalışmada, MCH'nin sadece 4.28 mg/L konsantrasyonunda önemli ölçüde azaldığı ($P<0.05$) diğer konsantrasyonlarda değişmediği ($P>0.05$) tespit

edildi. Kumar ve ark. (1999), deltamethrine maruz bırakılan *Heteropneustes fossilis* balığında MCH'nin azalışının önemli olduğunu; Atamanalp ve Yanık (2003), mancozebe maruz bırakılan gökkuşığı alabalığında, Svobodova ve ark. (2003), deltamethrine maruz bırakılan sazan balığında MCH'nin azalışının önemsiz olduğunu ve John (2007), OP'li metasystoxa maruz bırakılan tatlı su kemikli balığı *Mystus vittatus*'un MCH'nin artışının önemsiz olduğunu bildirmişlerdir.

İnci kefalinde MCHC değerinin MP'nin uygulanan bütün konsantrasyonlarında azaldığı ancak bunun sadece 6.11 mg/L'de önemli olduğu belirlendi ($P<0.05$). Santhakumar ve ark. (1999), OP'li monocrotophosuna maruz bırakılan *Anabas testudineus* balığında uygulanan pestisit artışına bağlı olarak MCHC değerinin azaldığını; Atamanalp ve Yanık (2003), mancozebe maruz bırakılan gökkuşığı alabalığında MCHC'nin, pestisite maruz bırakma süresine bağlı olarak MCHC'nin başlangıçta (1. ve 2. hafta süresince) önemli olarak azaldığı ve 3. haftada önemli bir artış olduğunu; Svobodova ve ark. (2003), deltamethrine maruz bırakılan sazan balığında MCHC değerinde gruplar arası herhangi farkın olmadığını; John (2007), OP'li metasystoxa maruz bırakılan tatlı su kemikli balığı *Mystus vittatus*'un MCHC değerinde artışının önemsiz olduğunu tespit etmişlerdir. Hematolojik parametrelerdeki bu farklılıklar uygulanan kimyasal maddenin özelliklerine, maruz bırakılan balığın türüne, büyüklüğüne, denemede kullanılan suyun kalite kriterlerine ve maruz bırakma süresine bağlı olarak farklılıklar göstermektedir (Santhakumar ve ark., 1999; Kumar ve ark., 1999; Saxena ve Seth, 2002; Katalay ve Parlak, 2002; Svobodova ve ark., 2003; John, 2007).

Çalışmada, hazırlanan yayma preparatlarının incelenmesi sonucunda, uygulanan tüm konsantrasyonlarda eritrositlerin yapılarının değişmediği gözlemlendi. Oysa, Uluköy ve Timur (1993), methidathion etken maddeli OP'li pestisitlerden supracide 2 hafta süreyle maruz bırakılan sudak balıklarında, kandan hazırlanan yayma preparatlarda yapılan inceleme sonrası eritrositlerden bazılarının oval

şekillerini kaybettiğini, çekirdeklerin şiştiğini ve yuvarlaklaştığını ve nukleus zarında lysis (erime) meydana geldiğini, monositlerin sayılarının oldukça fazla olduğunu ve suda zor eriyen, kristaller halinde bulunan supracide kristallerini monositlerin fagosite ederek bünyelerine aldıklarını tespit etmiştir. Benzer olarak çok farklı kirletici ortamlara maruz kalan çeşitli balıklarda yapılan çalışmalarda (Cengizler ve Şahan, 2000; Şahan ve Cengizler, 2002; Katalay ve Parlak, 2004; Drastichova ve ark., 2005; Zexia ve ark., 2007) kan hücrelerinin morfolojik deformasyonlara uğradığı gösterilmiştir. Uygulama konsantrasyonlarında MP'ye maruz bırakılan inci kefali kan hücrelerinde morfolojik olarak herhangi bir deformasyonun gözlenmemesi uygulanan konsantrasyona, MP'nin yapısına, denemede kullanılan suyun kalitesine veya balığın türüne bağlı olabilir. MP inci kefali eritrosit morfolojisinde herhangi bir etkiye neden olmamıştır.

Karaciğer üzerindeki etkiler: Kronik denemede kullanılan kontrol grubu balıkların karaciğer dokusundan alınan kesitlerde herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmadı. MP uygulanan inci kefali karaciğer dokusunda Balint ve ark. (1995)'nin bulgularına benzer olarak, hepatositlerin çoğunun yağ damlası içerdiği (Şekil 4.8a ve b) ve bazı balıklarda hepatositler arasında farklı büyüklüklerde sarı renkli pigment maddesi içeren yapıların olduğu gözlemlendi (Şekil 4.12a ve b; Şekil 4.13a, b ve c). Ayrıca MP'nin inci kefali karaciğer dokusunda özellikle kan damarlarına yakın bölgelerde hücrelerde hipertrofiye ve nekrotik ölümlere neden olduğu gözlemlendi. Benzer olarak, Fanta ve ark. (2003), OP'li MP içeren folidol 600'ün subletal konsantrasyonlarına maruz bırakılan *Corydoras paleatus* balığının karaciğer dokusunda şişlik, safra durgunluğu, fokal nekroz, atrofi ve vakuolizasyon tespit ettiklerini; Yıldırım ve ark. (2006), piretroit bileşiklerden deltamethrine maruz bırakılan Nil tilapialarının karaciğer dokusunda yaygın hidrofik dejenerasyon görüldüğünü bildirmişlerdir.

Cengiz ve Unlu (2006), deltamethrine maruz bırakılan sivrisinek balığının karaciğer dokusunda hepatositlerde hipertrofi, kupfer hücrelerinde önemli bir artış, dolaşımda bozukluk, fokal nekroz, yağ dejenerasyonu, nükleer piknosis ve

sinuzoidlerde daralma tespit ettiklerini; Das ve Mukherjee (2000), organik klorlu hexachlorocyclohexane maruz bırakılan *Labeo rohita* balığının karaciğer dokusunda yaygın nekroz ile birlikte hepatositlerin şiştiği ve kan damarlarında belirgin bir genişlemenin oluştuğunu; Altınok ve Capkın (2007), organik klorlu endosulfanın subletal konsantrasyonlarına maruz bırakılan gökkuşuğu alabalıklarının karaciğer dokularında az sayıda nekrotik hepatosit, eozinofilik materyal içeren genişlemiş hepatik perisinuzoidal alanlar, hepatositlerde vakuolar distrofi ve hepatositlerde hipertrofinin şekillendiğini tespit etmişlerdir. Çalışmamızda, MP'ye maruz bırakılan bir balıkta hepatik portal damarların çok fazla genişlediği (Şekil 4.11 b) aynı zamanda bu balıklarda hepatositler arasında sarı pigment maddelerinin biriktiği ancak hepatositlerde yağ damlasının olmadığı belirlendi.

Değişik pestisit gruplarına maruz bırakılan farklı balık türlerinin karaciğer dokularında belirlenen patolojik bulgular ile yaptığımız çalışmanın bazı bulguları benzerlik göstermektedir. Yapılan çalışmalarda karaciğer dokusunda gözlenen farklılıklar uygulanan kimyasala, kimyasalın dozuna ve balık türüne bağlı olarak farklılık göstermekle birlikte, çalışmalar çeşitli insektisitlerin balıkların karaciğerinde toksik etkiye sahip olduğu ve karaciğerde histopatolojik değişikliklere neden olduğunu göstermektedir. Çalışmada, MP'nin uygulanan 4.28 mg/L konsantrasyonunun inci kefali karaciğer dokusu için oldukça toksik olduğu söylenebilir.

Kontrol ve MP uygulanan balıklarda hepatositlerde depo edilen glikojen içeriğinde, PAS boyama ile belirgin bir fark gözlenmemekle birlikte kesin bir sonuç elde etmek için karaciğerde glikojen miktar tayini yapılması gerekmektedir.

Solungaç üzerindeki etkiler: Kronik denemede kullanılan kontrol ve DMSO kontrol grubu balıklar arasında solungaç histolojisinde belirgin bir fark gözlenmedi. MP uygulanan bazı balıklarda primer lamelleri çevreleyen epitel tabakada hücre sırasının artarak tabakanın kalınlaştığı, solunum lamellerin uç kısımlarının kıvrılarak tokmak şeklinde yapılar oluşturduğu ve bazı lamellerde

lamelleri çevreleyen epitel tabakanın ayrıldığı gözlemlendi (Şekil 4.10). De Silva ve Samayawardhena (2002), OP'li bir bileşik olan lorsbana maruz bırakılan lepiestes (*Poecilla reticulata*) balığında konsantrasyona bağlı olarak sekonder lamellerde kısılma ve kayıplar, mukus birikimi, buna bağlı olarak lamellerde fonksiyon bozukluğu ve solungaç dokusunda vakuolizasyonun arttığını bildirmişlerdir. Benzer olarak Machado ve Fanta (2003), MP'li bir bileşik olan mentox 600 CE'nin tatlı su balığı *Metynnis roosevelti*'nin solungaç lamellalarının epitelinde küçülme, kopma, hiperplasi, nekroz, lameller organizasyonda yapısal değişiklikler ve hücrel morfolojisinde değişimlerin olduğunu rapor etmişlerdir. Fanta ve ark. (2003), OP'li MP'nin subletal dozunun su ve besin yoluyla kontaminasyon etkilerine maruz bırakılan, tatlı su balığı *Corydoras paleatus*'ta önce besinle sonra suyla kontaminasyonun sonucunda sekonder lamellerde, epitel hiperplasi, ödem ve ayrılmaların meydana geldiğini bildirmişlerdir. Chang ve ark. (2006), OP'li bir bileşik olan trichlorfona maruz bırakılan dev tatlı su karidesi, *Macrobrachium rosenbergii*'nin solungaçlarında hemosoelik boşlukta hemositik infiltrasyon, lamellanın şiştiğini, eridiğini, nekrotik, hiperplastik ve ucu kalınlaşmış lamellaların olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu çalışmada, solungaçlarda belirlenen histopatolojik değişiklikler, diğer balıklarda benzer kimyasalların neden olduğu histopatolojik bulgular ile benzerlik göstermektedir. İlk olarak solungaçların maruz kaldığı bu kimyasalların, solungaçlarda histopatolojik etkileri beklenen bir durumdur.

Gonadlar üzerindeki etkiler: Kronik denemede kullanılan kontrol, DMSO kontrol grubu ve MP uygulanan balıkların ovaryumlarında morfolojik olarak belirgin bir farkın olmadığı gözlemlendi. Balıkların hepsinde oosit gelişmesinin yaşa ve zamana uygun olarak (Ünal ve ark. 1999) kortikal alveolar faza yeni girdiği belirlendi (Şekil 4.17a ve b). Grup-senkronize tip olan ovaryumda nukleo-kromatin ve perinuklear fazlarda genç oositlerinde mevcut olduğu gözlemlendi.

Pawar ve Katdare (1983), OP'li summethiona maruz bıraktıkları *Garra mullya* balığının ovaryumlarında olgun oositlerin tamamen ortadan kaybolduğunu; Ram ve Sathyanesan (1987), OP'li cythionun 2.0 mg/L konsantrasyonuna 6 ay süreyle maruz bıraktıkları *Channa punctatus*'un ovaryum ve testislerinde dejeneratif değişiklikler bulduklarını; Benarji and Rajebdranath (1991), OP'li ticari saflıktaki dichlorvosun letal dozuna maruz bırakılan *Clarias batrachus* balığının gonadlarının histopatolojisini inceledikleri çalışmada, oositlerin sitoplazmalarının çekildiğini, sıkıştığını ve dejenere olduğunu; Dutta ve Maxwell (2003), OP'li diazinona 3 hafta süreyle maruz bıraktıkları *Lepomis macrochirus* balığının ovaryum dokusunda deformasyonların olduğunu, farklı safhada atretik oosit sayısının arttığı ve ovaryum duvarının bozulduğunu belirtmişlerdir. Karbamatlı pestisitlerden carbofurana 30 gün süreyle maruz bırakılan adi sazan balığında ovaryum olgunlaşmasının başlangıç aşamasında gecikmeye sebep olduğu belirlenmiştir Chandra ve ark. (2004). Çeşitli pestisitlerin balıklarda gonadal olgunlaşmanın başlangıç aşaması üzerinde etkili olmadığı, bunun için uzun süreli uygulamalar olması gerektiğini bildirmiştir (Lal, 2007). Benzer olarak inci kefalinde de MP'nin gonad gelişimi üzerinde etkili olmaması genç oositlerin (perinuklear, kortikal ve nukleokromatin safhasındaki) MP'den etkilenmediğini göstermektedir.

Kronik denemede kullanılan kontrol ve DMSO kontrol grubu balıkların testis gelişimleri arasında fark olmadığı, bazı balıkların olgunlaşmamış testislere sahip olurken (Şekil 4.19a; Şekil 4.20a), bazı balıkların olgunlaşmakta olan testis safhasına yeni girdiği belirlendi (Şekil 4.19b; Şekil 4.20b). MP uygulanan bazı balıklarda intersititijyal dokuda kanamaların olduğu (Şekil 4.22a ve b) bazı foliküllerin lümenlerindeki hücrelerin bozulduğu ve lümenlerin genişlediği (Şekil 4.21 a ve b) gözlemlendi. Bazı balıklarda ise kanamanın olduğu bölgelerde içi sıvı ile dolu olan foliküllerin birleşerek geniş lümenli yapılar oluşturduğu gözlemlendi (Şekil 4.22a ve b). Benzer olarak Pandey ve Shukla (1982), OP'li malathionun 2 ve 4 mg/l konsantrasyonlarına maruz bırakılan tilapiada testikular elementlerin parçalandığı; Saxena ve Mani (1985; 1987)'da OP'li fenitrothionun 1.5 mg/L

konsantrasyonuna 120 gün süreyle maruz bıraktıkları *Channa punctatus*'un testislerinde histopatolojik bulgular gözlediklerini belirtmişlerdir. İnci kefalinde MP'nin testis dokusunda histopatolojik etkilere sahip olduğu belirlenmekle birlikte MP'nin mitotik safhadaki spermatogonium gruplarının MP'ye daha duyarlı olduğu söylenebilir.

Karbamatlı bileşiklerle yapılan kronik toksisite çalışmalarında da balıkların testis dokusu üzerinde, OP'li pestisitlerin sebep olduğu bozulmalara benzer bulgular olduğunu bildiren çeşitli çalışmalar mevcuttur. Karbamatlı carbaryl'nin 10 ve 20 mg/L konsantrasyonlarına maruz bırakılan *Channa punctatus*'un testisinde intersititiyal nekroz, bağ dokuda fibrozis, lobül duvarlarında bozulma olduğu bildirilmiştir (Arora ve Kulshrestha, 1984). Karbamatlı bir bileşiğe maruz bıraktıkları *Clarias batrachus*'da testislerinde spermatidlerin kümelenmesini, lobül duvarının parçalandığını (Sadhu ve Mukhopathyaya, 1985); benzer olarak Chandra ve ark. (2003)'da karbamatlı karbofurana maruz bırakılan adi sazanda testikular gelişimin ve spermatogenezinin bozulduğunu tespit etmişlerdir.

AChE ve BChE aktivite değişimi: İnci kefalinde MP'nin uygulanan 4.28 mg/L konsantrasyonunda, AChE aktivitesinin kas ve karaciğer dokusunda değişmediği ($P>0.05$) ancak beyin dokusunda önemli bir azalmanın olduğu ($P<0.05$) belirlendi. Bununla birlikte BChE aktivitesinin kas, beyin ve karaciğerde değişmediği ($P>0.05$) tespit edildi. Rao ve Rao (1984a), MP'ye maruz bırakılan *Tilapia mossambica*'da kas, solungaç, karaciğer ve beyin dokularında AChE aktivitesinin azaldığını; Da Silva ve ark. (1993), OP'li MP içeren folidol 600'ün *Callichthys callichthys*'in plazma kolinesteraz aktivitesinde, denemenin başlangıcından 4 saat sonra % 90 oranında inhibisyon etkisine sahip olduğunu; De Aguiar ve ark. (2004), etken maddesi MP olan Folidol 600'ün subletal konsantrasyonuna maruz bırakılan *Brycon cephalus* balığının beyin AChE aktivitesinin % 87 oranında azaldığını; De Almeida ve ark. (2005), MP'ye 24 saat süreyle maruz bırakılan *Brycon cephalus*'da kas ve beyin dokusunda MP'nin

düşük konsantrasyonunda AChE aktivitesinin azaldığını, inci kefalindeki bulguya benzer olarak temel inhibisyon etkisinin beyinde gözlendiğini bildirmişlerdir.

Bir çok OP'li insektisitlere maruz bırakılan akuatik organizmaların farklı dokularında AChE aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir (Sahib ve ark. 1980; Ansari ve Kumar 1984; Balint ve ark. 1995; Keizer ve ark. 1995; Lundebye ve ark. 1997; Gruber ve Munn 1998; Sturm ve ark. 2000; Lund ve ark. 2000; Dembele ve ark. 2000; Wogram ve ark. 2001; Chuiko ve ark. 2002; Beauvais ve ark. 2002; Roex ve ark. 2003; Wheelock ve ark. 2005; Chang ve ark. 2006; Attademo ve ark. 2007). OP'li insektisitlere maruz bırakılan akuatik organizmaların farklı dokularında BChE aktivitelerinde önemli azalma olduğunu (Sturm ve ark. 2000; Chuiko ve ark. 2002) ve farklı olarak BChE aktivitesinde herhangi bir değişikliğin olmadığı (Wogram ve ark. 2001) bildirilmiştir. Benzer olarak inci kefalinde de ölçülen dokularda BChE aktivitesinde değişiklik gözlenmiştir.

İnci kefalinde MP toksisitesinin belirtileri, yüzme bozukluğu, akvaryum tabanına dik vaziyette taban boyunca dolaşma, denge kaybı, akvaryumun dibine düşme, yan yatma, kendi eksenini etrafında dairesel hareketler, suyun yüzeyine ani sıçrama hareketi, solunum sorunları, baş ve kuyruk kısmının dorsa-ventral veya lateral olarak bir yay gibi kıvrılması, asfeksi ve ölüm olarak gözlenmiştir.

İnci kefalinin yaşadığı tatlı su ortamlarında en fazla 0.1144 mg/L MP'nin bulunması güvenli konsantrasyonu oluşturmaktadır. Sularda bu değer üzerinde MP bulunmamalıdır.

Sonuç olarak MP'nin bütün konsantrasyonlarında inci kefalinde davranış bozukluklarına neden olduğu gözlemlendi. Akut denemede 96 saat LC₅₀ 11.44 mg/L, 24 saat EC₅₀ 6.89 mg/L ve LT₅₀'nin konsantrasyona bağlı olarak 28.14-289.29 saatleri arasında değiştiği belirlendi. Kronik denemede MP'nin uygulanan bütün konsantrasyonlarında kan değerlerine bakıldı. Hb ve Hct değerlerinin MP'nin 3.00 mg/L konsantrasyonunda kontrole göre değişmediği; RBC, MCV ve MCH değerlerinde kontrollere göre belirgin bir değişme gözlenmedi. MP'nin

bütün konsantrasyonlarında eritrositlerde morfolojik herhangi bir değişiklik gözlenmedi. MP'nin inci kefali kan hemoglobin ve hematokrit LOEC değeri 2.10 mg/L, NOEC değeri 1.47 mg/L, MATC değeri 1.76 mg/L, ACR değeri 6.50 mg/L olarak belirlendi. MP'nin karaciğer, solungaç ve testis dokularında histopatolojik değişikliklere neden olduğu ancak genç oositlere sahip ovaryum üzerinde patolojik bir etkisinin olmadığı gözlendi. İnci kefalinde AChE aktivitesinin kas ve karaciğer dokusunda değişmediği ancak beyin dokusunda önemli bir azalmanın olduğu, BChE aktivitesinin kas, beyin ve karaciğerde değişmediği tespit edildi. MP'nin inci kefali için toksik bir madde olduğu dolayısıyla Van Gölü havzasında yaygın olarak kullanılan MP'nin kontrollü kullanılması gerektiği söylenebilir.

KAYNAKLAR

- Akçocuk, A., 2006. *İnci Kefali (Chalcalburnus tarichi Pallas, 1811) Beyninde Nörosekresyon Hücrelerinin Dağılımı ve Gonado-Releasing Hormon (GnRH) Salgılayan Hücrelerin İmmunohistokimyasal Olarak İşaretlenmesi* (yüksek lisans tezi, basılmamış). YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Akgül, M., 1980. Van Gölü Kapalı Havzasında Yaşayan İnci Kefalinin (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811) Biyo-Ekolojisi Üzerine Araştırmalar. **TÜBİTAK VII. Bilim Kongresi**. Aydın. 533-544.
- Akman, E., 2007. *Van Gölü Balığının (Chalcalburnus tarichi P., 1811) Beyin ve Karaciğerinden Asetilkolinesteraz (E.C.3.1.1.7) Enziminin Afinite Kromatografisi Yöntemi ile Saflaştırılması ve Karakterizasyonu* (yüksek lisans tezi, basılmamış). YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Akyurt, İ., Aras, M. S., Yanar, M., 1985. Van Gölü Havzasında Yaşayan *Chalcalburnus tarichi* (Pallas, 1811)'nin Büyüme Durumu, Gonad Gelişimi, Yumurta Verimliliği ile Et Verim Özellikleri Üzerine Bir Araştırma. **Et ve Balık Kurumu Endüstrisi Dergisi**, 7, (43):13-20.
- Alabaster, J.S., Lloyd, R., 1982. **Water Quality Criteria for Freshwater Fish**. 2. Ed. FAO, Butterworths, Sci., London, Sidney, Toronto. 361.
- Alırız, S., 2000. *İnci Kefalinden (Chalcalburnus tarichi P., 1811) Asetilkolinesteraz Enziminin (EC 3.1.1.7) Afinite Kromatografisi ile Saflaştırılması* (yüksek lisans tezi, basılmamış). YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Alırız, S., Türkoğlu, V., 2003. Purification and Characterization of Acetylcholinesterase from the Lake Van Fish (*Chalcalburnus tarichi*

- Pallas, 1811). *Preparative Biochemistry and Biotechnology, Vol. 33*, No.2:137-145.
- Altaş, L., Yücel, S., Orhan, Y., Büyükgüngör, H., 2001. Çevre Kirliliğinde Öncelikler ve Öneriler. *Tarımsal Çevre ve Su Kirliliği Semineri*. TC Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara. 214.
- Altınok, I., Capkın, E., 2007. Histopathology of Rainbow Trout Exposed to Sublethal Concentrations of Methiocarb or Endosulfan. *Toxicologic Pathology*, 35:405-410.
- Altun, M., 2005. *Van Gölü Balığı'nın (Chalcalburnus tarichi P., 1811) Karaciğerinden ve Eritrositlerinden Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Enziminin (E.C. 1.1.1.49) Afinite Kromatografisi ile Saflaştırılması ve Karakterizasyonu* (yüksek lisans tezi, basılmamış). YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Anonim 1986. *Su Ürünleri Geliştirme Projesi (İnci Kefali Araştırma Projesi)* (yayınlanmamış). TC Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı Proje ve Uygulama Genel Müdürlüğü, Araştırma Projeleri Çalışma Grup Toplantısı, Muğla.
- Anonim, 1994. Pesticide Information Profile, Methyl Parathion. <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/haloxyp-methylparathion/methyl-parathion-ext.html> Extension Toxicology Network, United States. Erişim tarihi: 18.07.2008.
- Anonim, 1995. *Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 19 edition. APHA, AWWA, WEF, Washington, USA.
- Anonim, 1996. Pesticide Information Profile, Methyl Parathion. <http://extoxnet.orst.edu/pips/methylpa.htm> Extension Toxicology Network, United States. Erişim tarihi: 18.07.2008.

- Anonim, 2001. *FAO Specifications and Evaluations for Plant Protection Products, Parathion-Methyl*. Food and Agriculture organization of The United Nations, Rome. 31.
- Anonim, 2007. Methyl Parathion. http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC35110 Pan Pesticides Database, United States. Erişim tarihi: 18.07.2008.
- Anonim, 2008a. İstatistiksel Tablolar, Tatlısu Ürünleri, Avlanan Tatlısu Ürünleri Miktarı. http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb_id=47&ust_id=13 Türkiye İstatistik Kurumu, Ankara. Erişim tarihi: 18.07.2008.
- Anonim, 2008b. Dimethyl Sulfoxide. http://www.arkema.com/sites/group/fr/common/advanced_search.page#result Arkema, France. Erişim tarihi: 18.07.2008.
- Anonim, 2008c. Pan Pesticides Database-Chemical Toxicity Studies on Aquatic Organisms. http://www.pesticideinfo.org/List_AquireAll.jsp?Rec_Id=PC35110&offset=100 U. S. EPA Aquire, United States. Erişim tarihi: 18.07.2008.
- Ansari, B. A., Kumar, K., 1984. Malathion Toxicity: In Vivo İnhibition of Acetylcholinesterase in the Fish *Brachydanio rerio* (Cyprinidae). *Toxicology Letters, Vol. 20*, Issue. 3, March:283-287.
- Arabacı, M., 1995. *İnci Kefalinde (Chalcalburnus tarichi Pallas, 1811) Bazı Kan Parametreleri Üzerinde Bir Araştırma* (yüksek lisans tezi, basılmamış). YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Arabacı, M., Çağırğan, H., Sarı, M., Şekeroğlu, R., 2001. Serum Ionic of Endemic *Chalcalburnus tarichi* During Spawning, Prespawning and Postspawning Terms, Living in Highly Alkaline Waters of Lake Van (pH 9.8), Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1*: 53-57.

- Arora, N., Kulshrestha, S. K., 1984. Comparison of Toxic Effects of Two Pesticides on the Testes of a Freshwater Teleost, *Channa punctatus* (Bloch). *Acta Hydrochim Hydrobiol.*, **12**:435-441.
- Atamanalp, M., Cengiz, M., 2002. Bir Sentetik Piretroit İnsektisit (Cypermethrin)'in Sublethal Dozlarının *Capoeta capoeta capoeta* (Güldenstaedt, 1772)'da Hemoglobin, Hematokrit ve Sediment Seviyeleri Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi. *E. Ü. Su Ürünleri Dergisi*, **Cilt. 19**, Sayı. 1-2:169-175.
- Atamanalp, M., Yanık, T., 2001. Pestisitlerin Cyprinidae'lere Toksik Etkileri. *E. Ü. Su Ürünleri Dergisi*, **Cilt. 18**, Sayı. 3-4:555-563.
- Atamanalp, M., Yanık, T., 2003. Alterations in Hematological Parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Exposed to Mancozeb. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, **27**:1213-1217.
- Attademo, A. M., Peltzer, P. M., Lajmanovich, R. C., Cabagna, M., Fiorenza, G., 2007. Plasma B-Esterase and Glutathione S-Transferase Activity in the Toad *Chaunus schneideri* (Amphibia, Anura) Inhabiting Rice Agroecosystems of Argentina. *Ecotoxicology*, **16**:533-539.
- Balint, T., Szegletes, T., Szegletes, Zs., Halasy, K., Nemcsok, J., 1995. Biochemical and Subcellular Changes in Carp Exposed to the Organophosphorus Methidation and the Pyrethroid Deltamethrin. *Aquatic Toxicology*, **33**:279-295.
- Beauvais, S. L., Cole, K. J., Atchison, G. J., Coffey, M., 2002. Factors Affecting Brain Cholinesterase Activity in Bluegill (*Lepomis macrochirus*). *Water, Air, and Soil Pollution*, **135**:249-264.
- Benarji, G., Rajebdranath, T., 1991. Dichloros-Induced Histoarchitectural Changes in the Oocytes of A Freshwater Fish. *Func. Dev. Morphol.*, **1**:9-12.

- Bilgili, A., Sağmanlıgil, H., etinkaya, N., Yarsan E., Türel, İ., 1995. Van Gölü Suyunun Doğal Kalitesi ve Buradan Avlanan İnci Kefali (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811) Örneklerinde Bazı Ağır Metal Düzeyleri. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **42**:445-450.
- Bilgili, A., Yarsan, E., Türel, İ., 1999. Van Gölü'nden Avlanan İnci Kefali Örneklerinde Arsenik Düzeyleri. *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences*, **23**, Ek sayı 2, 367-371.
- Blaxhall, P.C. and Daisley, K.W., 1973. Routine Haematological Methods for use Fish with Blood. *J. Fish Biol.*, **5**: 771-781.
- Blaxhall, P.C., 1972. The Haematological Assessment of the Health of Freshwater Fish. A Review of Selected Literature. *J. Fish Biol.*, **4**: 593-604.
- Boone, J. S., Chambers, J. E., 1997. Biochemical Factors Contributing to Toxicity Differences Among Chlorpyrifos, Parathion, and Methyl Parathion in Mosquitofish (*Gambusia affinis*). *Aquatic Toxicology*, **39**, 333-343.
- Bretauğ, S., Toutant, J.P., Saglio, P., 2000. Effects of Carbofuran, Diuron, and Nicosulfuron on Acetylcholinesterase Activity in Goldfish (*Carassius auratus*). *Environmental Research, Section B, Ecotoxicology and Environmental Safety*, **47**:117-124.
- Cengiz, E. I., Unlu, E., 2006. Sublethal Effects of Commercial Deltamethrin on the Structure of the Gill, Liver and Gut Tissues of Mosquitofish, *Gambusia affinis*: A Microscopic Study. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **21**:246-253.
- Cengizler, İ., Şahan (Azizoğlu), A., 2000. Seyhan Baraj Gölü ve Seyhan Nehri'nde Yaşayan Aynalı Sazan (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)'larda Bazı Kan Parametrelerinin Belirlenmesi. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, **24**:205-214.

- Chandra, S., Ram, R. N., Singh, I. J., 2003. Testicular Recrudescence and Recovery Response in Common Carp, *Cyprinus carpio* After Long-Term Exposure to Carbamate Pesticide. *J. Ecophysiol. Occup. Health*, **3**:15-36.
- Chandra, S., Ram, R. N., Singh, I. J., 2004. First Ovarian Maturity and Recovery Response in Common Carp, *Cyprinus carpio* After Exposure to Carbofuran. *J. Environ. Biol.*, **25**:239-249.
- Chang, C. C., Lee, P. P., Hsu, J. P., Yeh, S. P., Cheng, W., 2006. Survival, and Biochemical, Physiological, and Histopathological Responses of the Giant Freshwater Prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, to Short-Term Trichlorfon Exposure. *Aquaculture*, **253**:653-666.
- Chuiko, G. M., Podgornaya, V. A., Lavrikova, I. V., 2002. Organophosphorus Compound O, O-Dimethyl-O-(2,2-Dichlorovinyl)-Phosphate as Selective Inhibitor for Separate Determination of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Activities in the Roach *Rutilus rutilus*. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, **Vol. 38**, No. 3, 264-269.
- Chuiko, G.M., Podgornaya, V.A., Zhelnin, Y.Y., 2003. Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Activities in Brain and Plasma of Freshwater Teleosts: Cross-Species and Cross-Family Differences. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* **135**:55-61.
- Çelik, İ., Tülücü, Y., Özok, N., 2003. *Hayvan Fizyolojisi Laboratuvar Kılavuzu*. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Van. 52.
- Çetinkaya, O., 2003. *Su Kalitesi Ders Notları*. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü, Van. 76.
- Çetinkaya, O., 2005. Akuatik Toksikoloji: Balık Biyodeneyleleri. Bölüm 7. *Balık Biyolojisi Araştırma Yöntemleri* (Ed.: M. Karataş) Nobel, Yayın No. 772, Fen ve Biyoloji Yayınları Dizisi No.1, Ankara. 498.

- Çetinkaya, O., Elp, M., 1995. İnci Kefalinin (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811) Morfolojik Anatomisi ve Sistematik Özellikleri. **Doğu Anadolu I. ve II. Su Ürünleri Sempozyumu Tebliğleri**, 23-25 Haziran 1993, 14-16 Haziran 1995, Erzurum. 713-722.
- Çetinkaya, O., Öksüz, A., 1996. Van Gölü İnci Kefali (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811) Populasyonunun Yapısı, Büyüme, Beslenme, Üreme Özellikleri ve Avcılığı. **YYÜ Ziraat Fakültesi Dergisi**, 6, (3):1-15.
- Çetinkaya, O., Sarı, M., Şen, F., Arabacı, M., Duyar, H. A., 1994. Van Gölü'ne Dökülen Karasu Çayı'nın Limnolojik Özellikleri. **YYÜ Ziraat Fakültesi Dergisi**, (4):151-168.
- Da Silva, H. C., Medina, H. S. G., Fanta, E., Bacila, M., 1993. Sub-Lethal Effects of the Organophosphate Folidol 600 (Methyl Parathion) on *Callichthys callichthys* (Pisces: Teleostei). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology**, Vol.105, Issue.2, June, 197-201.
- Danulat, E., 1995. Biochemical-Physiological Adaptations of Teleosts to Highly Alkaline , Saline Lakes. **Hochachka and Mommsen (eds.), Biochemistry and molecular biology of fishes**, Vol. 5, 229-249.
- Danulat, E., Kempe, S., 1992. Nitrogenous Waste Excretion and Accumulation of Urea and Ammonia in *Chalcalburnus tarichi* (Cyprinidae), Endemic to the Extremely Alkaline Lake Van (Eastern Turkey). **Fish Physiol. Biochem**, Vol. 9, No. 5/6:377-386.
- Danulat, E., Selçuk, B., 1992. Life History and Environmental Conditions of the Anadromous *Chalcalburnus tarichi* (Cyprinidae) in the Highly Alkaline Lake Van, Eastern Anatolia, Turkey. **Arch. Hydrobiology**, 126, (1):105-125.
- Das, B. K., Mukherjee, S. C., 2000. A Histopathological Study of Carp (*Labeo rohita*) Exposed to Hexachlorocyclohexane. **Veterinarski Arhiv**, 70, (4):169-180.

- De Aguiar, L.H., Moraes, G., Avilez, I. M., Altran, A. E., Correa, C.F., 2004. Metabolical Effects of Folidol 600 on the Neotropical Freshwater Fish Matrinxa, *Brycon cephalus*. *Environmental Research*, **95**:224-230.
- De Almeida, L. C., Aguiar, L. H., Moraes, G., 2005. Effect of Methyl Parathion on the Muscle and Brain Acetylcholinesterase Activity of Matrinxa (*Brycon cephalus*). *Ciencia Rural, Santa Maria*, **V. 35**, no.6, 1412-1416.
- De la Torre, F.R., Ferrari, L., Salibian, A., 2002. Freshwater Pollution Biomarker: Response of Brain Acetylcholinesterase Activity in Two Fish Species. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* **131**:271-280.
- De Silva, P. M. C. S., Samayawardhena, L. A., 2002. Low Concentrations of Lorsban in Water Result in Far Reaching Behavioral and Histological Effects in Early Life Stages in Guppy. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **53**:248-254.
- Dembele, K., Haubruge, E., Gaspar, C., 2000. Concentration Effects of Selected Insecticides on Brain Acetylcholinesterase in the Common Carp (*Cyprinus carpio* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **45**:49-54.
- Drastichova, J., Svestkova, E., Luskova, V., Svobodova, Z., 2005. Cytochemical Study of Carp Neutrophil Granulocytes After Acute Exposure to Cadmium. *J. Appl. Ichthyol.*, **21**:215-219.
- Dutta, H. M., Maxwell, L. B., 2003. Histological Examination of Sublethal Effects of Diazinon on Ovary of Bluegill, *Lepomis macrochirus*. *Environmental Pollution*, **121**:95-102.
- Duyar, H.A., 2000. *İnci Kefali (Chalcalburnus tarichi Pallas, 1811) Kas ve Yumurtasının Kimyasal Kompozisyonu ve Kroket Yapımı Üzerine Bir Araştırma* (doktora tezi, basılmamış). Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

- Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O., Gürbüz, F., 1987. *Araştırma ve Deneme Metodları (İstatistik Metodları-II)*. A. Ü., Zir. Fak., Yayın. 1021, Ders Kitabı: 295, Ankara. 381.
- Edwards, F., Tchounwou, P. B., 2005. Environmental Toxicology and Health Effects Associated with Metyhl Parathion Exposure-A Scientific Review. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2, (3), 430-441.
- Egemen, Ö., 2005. *Su Kalitesi*. V. Baskı, Ege Üniversitesi Yayınları, Su Ürünleri Fakültesi Yayın No: 14, Bornova-İzmir. 150.
- Egemen, Ö., Canyurt, M.A., 1996. Pestisidlerin Akuatik Ortamdaki Etkileri. *Hayvancılık'96 Ulusal Kongresi*, 18-20 Eylül 1996, Cilt.1, Bildiriler, İzmir. 616-621.
- Ekici, K., Akkaya, L., Sari, M., 2005. Water Pollution and the Levels of GPT and GOT Enzymes in Fish. *Indian Vet. J.*, December, 82:1335-1336.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V.J., 1961. A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. *Biochem. Pharmacol.*, 7:88-95.
- Elp, M., 2002. *Koçköprü Baraj Gölü'nde (Van) Yaşayan Siraz (Capoeta capoeta, Guldenstaedt, 1772) ve İnci Kefali (Chalcalburnus tarichi Pallas, 1811) Populasyonları Üzerine Bir Araştırma* (doktora tezi, basılmamış). İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Elp, M., Çetinkaya, O., 2000. İnci Kefali (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811)'nin Üreme Biyolojisi Üzerine Bir Araştırma. *Doğu Anadolu Bölgesi IV. Su Ürünleri Sempozyumu*. 28-30 Haziran 2000, Erzurum. 51-66.
- Elp, M., Şen, F., Çetinkaya, O., 2006. Van Gölü Havzası Su Kaynaklarında Yaşayan Balık Populasyonlarının Karşılaştığı Problemler ve Çözüm Yolları. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, Cilt.23, Ek. 1/3, 407-412.

- Fanta, E., Rios, F.S.A., Romao, S., Vianna, A.C.C., Freiburger, S., 2003. Histopathology of the *Corydoras paleatus* Contaminated with Sublethal Levels of Organophosphorus in Water and Food. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **54**:119-130.
- Gruber, S. J., Munn, M. D., 1998. Organophosphate and Carbamate Insecticides in Agricultural Waters and Cholinesterase (ChE) Inhibition in Common Carp (*Cyprinus carpio*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **35**:391-396.
- Güler, Ç., Çobanoğlu, Z., 1997. *Pestisitler*. Çevre Sağlığı Temel Kaynaklar Dizisi No:52, İlköz Matbaası, Ankara. 173.
- Güloğlu, Ö. F., 2003. *Koyun Karaciğerinden Asetilkolinesteraz Enzimi'nin (EC 3.1.1.7) Afinite Kromatografisi Yöntemi ile Saflaştırılması, Karakterizasyonu ve Bazı Antibiyotik ve Ağrı Kesici İlaçların İnhibisyon Etkilerinin Araştırılması* (yüksek lisans tezi, basılmamış). YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Güloğlu, Ö. F., Türkoğlu, V., Çelik, İ., 2006. Characterization of Acetylcholinesterase Purificated from Sheep Liver and Inhibition by Some Painkillers. *Asia Journal of Chemistry*, **18**, (2): 1097-1103.
- Heath, A.G., 1995. *Water Pollution and Fish Physiology*. 2nd ed. CRC Press, Inc., Florida, USA. 359.
- Hinton, D.E., 1990. Histological techniques. Chapter 7. *Methods for Fish Biology* (Ed. C. B. Schreck and P. B. Moyle) American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA, 684.
- Houston, A.H., 1990. Blood and Circulation. Chapter 9. *Methods for Fish Biology* (Ed. C. B. Schreck and P. B. Moyle) American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA, 684.
- Huang, T.L., Obih, P.O., Jaiswal, R., Hartley, W.R., Thiyagarajah, A., 1997. Evaluation of Liver and Brain Esterases in the Spotted Gar Fish

- (*Lepisosteus oculatus*) as Biomarkers of Effect in the Lower Mississippi River Basin. ***Bull. Environ. Contam. Toxicol.***, **58**:688-695.
- John, P. J., 2007. Alteration of Certain Blood Parameters of Freshwater Teleost *Myxus vittatus* After Chronic Exposure to Metasystox and Sevin. ***Fish Physiol Biochem***, **33**:15-20.
- Kabeer Ahammad Sahib, I., Sailatha, D., Ramana Rao, K.V., 1980. Impact of Malathion on Acetylcholinesterase in the Tissue of the Fish *Tilapia mossambica* (Peters)-A Time Course Study. ***J. Biosci.***, **Vol. 2**, Number 1, March, 37-41.
- Kaptaner, B., 2004. ***İnci Kefalinde (Chalcalburnus tarichi Pallas, 1811) Ovulasyondan Sonra Ovaryum Folikül Hücrelerinde Apoptozun Gösterilmesi*** (yüksek lisans tezi, basılmamış). YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Kaptaner, B., Ünal, G., 2006. Apoptosis in Postovulatory Follicles of *Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811. ***E.U. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences***, **Vol. 23**, Issue (3-4):263-267.
- Katalay, S., Parlak, H., 2002. Su Kirliliğinin, *Gobius niger* Linn., 1758 (Pisces: Gobiidae)'in Kan Parametreleri Üzerine Etkileri. ***E.Ü. Su Ürünleri Dergisi Cilt.19***, Sayı.(1-2):115-121.
- Katalay, S., Parlak, H., 2004. Kadmiyum'un *Gobius niger* L., 1758 (Pisces:Gobiidae)'in Eritrosit Yapısı Üzerine Etkileri. ***E.Ü. Su Ürünleri Dergisi Cilt.21***, Sayı.(1-2):99-102.
- Keizer, J., D'Agostino, G., Nagel, R., Volpe, T., Gnemi, P., Vittozzi, L., 1995. Enzymological Differences of AChE and Diazinon Hepatic Metabolism: Correlation of In Vitro Data with the Selective Toxicity of Diazinon to Fish Species. ***The Science of the Total Environmental***, **171**:213-220.
- Kocabaş, M., 1999. ***Nazik Gölü (Ahlal-Bitlis) İnci Kefali (Chalcalburnus tarichi Pallas, 1811) Populasyonunun Yapısı, Büyüme, Üreme ve Beslenme***

- Özellikleri Üzerine Araştırmalar** (yüksek lisan tezi, basılmamış). YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Kocabatmaz, M. ve Ekingen, G., 1977, Preliminary Investigation on Some Haematological Norms in Five Freshwater Fish Species. *Fırat Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 4, (1-2): 28-40.
- Kocabatmaz, M., Ekingen, G., 1984. Değişik Tür Balıklarda Kan Örneği Alınması ve Hematolojik Metotların Standardizasyonu. *Doğa Bilim Dergisi*, D1, 8, (2):149-159.
- Konuk, T., 1981. *Pratik Fizyoloji*. İkinci baskı, AÜ Basımevi, Ankara. 250.
- Koyuncu, N., 2000. *İnci Kefali (Chalcalburnus tarichi Pallas, 1811) Merkezi Sinir Sistemi Üzerinde Anatomik ve Histolojik Bir Araştırma* (yüksek lisans tezi, basılmamış). YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Kumar, S., Lata, S., Gopal, K., 1999. Deltamethrin Induced Physiological Changes in Freshwater Cat Fish *Heteropneustes fossilis*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 62:254-258.
- Lal, B., 2007. Pesticide-Induced Reproductive Dysfunction in Indian Fishes. *Fish Physiol. Biochem.*, 33:455-462.
- Lionetto, M.G., Caricato, R., Giordano, M.E., Pascariello, M.F., Marinosci, L., Schettino, T., 2003. Integrated Use of Biomarkers (Acetylcholinesterase and Antioxidant Enzymes Activities) in *Mytilus galloprovincialis* and *Mullus barbatus* in an Italian Coastal Marine Area. *Marine Pollution Bulletin*, 46:324-330.
- Lloyd, R., 1992. *Pollution and Freshwater Fish*. Fishing News Books, Oxford. 176.
- Lund, S. A., Fulton, M. H., Key, P. B., 2000. The Sensitivity of Grass Shrimp, *Palaemonetes pugio*, Embryos to Organophosphate Pesticide Induced Acetylcholinesterase Inhibition. *Aquatic Toxicology*, 48:127-134.

- Lundebye, A. K., Curtis, T. M., Braven, J., Depledge, M. H., 1997. Effects of the Organophosphorous Pesticide, Dimethoate, on Cardiac and Acetylcholinesterase (AChE) Activity in the Shore Crab *Carcinus maenas*. *Aquatic Toxicology*, **40**:23-36.
- Luskova, V., Svoboda, M., Kolarova, J., 2002. The Effect of Diazinon on Blood Plasma Biochemistry in Carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Vet. Brno*, **71**:117-123.
- Macek, K.J., McAllister, W.A., 1970. Insecticide Susceptibility of Some Common Fish Family Representatives. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **No.1**, 20-27.
- Machado, M.R., Fanta, E., 2003. Effects of the Organophosphorous Methyl Parathion on the Branchial Epithelium of a Freshwater Fish *Metynnis roosevelti*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **Vol. 46**, No.3:361-372.
- Milam, C.D., Bouldin, J.L., Farris, J.L., Schulz, R., Moore, M.T., Bennett, E.R., Cooper, C.M., Smith, S.Jr., 2004. Evaluating Acute Toxicity of Methyl Parathion Application in Constructed Wetland Mesocosms. *Environmental Toxicology*, **Vol. 19**, Issue.5:471-479.
- Moctezuma, E., Leyva, E., Palestino, G., de Lasa, H., 2007. Photocatalytic Degradation of Methyl Parathion: Reaction Pathways and Intermediate Reaction Products. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, **186**: 71-84.
- Monteiro, D.A., de Almeida, J.A., Rantin, F. T., Kalinin, A.L., 2006. Oxidative Stress Biomarkers in the Freshwater Characid Fish, *Brycon cephalus*, Exposed to Organophosphorus Insecticide Folisuper 600 (Methyl Parathion). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* **143**:141-149.
- Moorthy, K. S., Reddy, B. K., Swami, K. S., Chetty, C. S., 1985. Glucose Metabolism in Hepatopancreas and Gill of *Lamellidens marginallis*

- During Methyl Parathion Toxicity. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, Vol. 24, Issue. 1, August:40-44.
- Munsuz, N., Ünver, İ., 1983. *Türkiye Suları*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları:882, Ders Kitabı:247, Ankara. 392.
- Murison, D. J., Moore, D. C., McHenery, J. G., Robertson, N. A., Davies, I. M., 1997. Epiphytic Invertebrate Assemblages and Dichlorvos Usage at Salmon Farms. *Aquaculture*, 159:53-66.
- Murty, A. S., Ramani, A. V., Christopher, K., Rajabhushanam, B. R., 1984. Toxicity of Methyl Parathion and Fensulfothion to the Fish *Mystus cavasius*. *Environ. Pollut. (A Ecol. Biol.)*, Vol.34. No.1, 37-46.
- Nagaratnamma, R., Ramamurthi, R., 1981. Comparative Evaluation of Methyl Parathion Toxicity to Some Selected Freshwater Organisms. *Current Science*, April 5, Vol.50, No.7, 334-335.
- Odabaşoğlu, F., 1993. *Van Gölü'nde Yaşayan İnci Kefali (Chalcalburnus tarichi, Pallas, 1811) Balığı'nın Çeşitli Dokularının Kimyasal bileşimi* (yüksek lisans tezi, basılmamış). YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- OECD, 2000. *Fish Juvenile Growth Test*. OECD TG 215 (2000), C.14, Dir 2001/59/EC (O. J. L 225 2001).
- Oğuz, A. R., 2002. *İnci Kefali (Chalcalburnus tarichi Pallas, 1811) Karaciğerinin Histolojik Yapısı ve Karaciğerdeki Total Yağ ve Glikojen Seviyelerinin Üreme Siklusuna Bağlı Olarak Değişimi* (yüksek lisans tezi, basılmamış). YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Oyar, A., 2000. *İnci Kefali (Chalcalburnus tarichi Pallas, 1811)'nin sıcaklık, çözülmüş oksijen ve tuzluluk toleransı üzerine araştırmalar* (yüksek lisans tezi, basılmamış). YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Oyar, A., Çetinkaya, O., 2000. İnci Kefali (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811)'nin Tuzluluk Toleransı Üzerinde Araştırmalar. *Doğu Anadolu*

- Bölgesi IV. Su Ürünleri Sempozyumu.** 28-30 Haziran 2000, Erzurum. 389-402.
- Özdemir, N., 1982. Van Gölünde Yaşayan *Chalcalburnus tarichi* (Pallas, 1811)'nin Boy-Ağırlık İlişkisi ve Kondisyon Faktörü Üzerine Bir Araştırma. *F.Ü.Fen Fakültesi Dergisi, Sayı: 2*, 102-106.
- Pandey, A. K., Shukla, L., 1982. Effect of an Organophosphorous Insecticide Malathion on the Testicular Histophysiology in *Sarotherodon mossambicus*. *Nat. Acad. Sci. Letters*, 7:141-143.
- Pawar, K. R., Katdare, M., 1983. Effect of Sumithion on the Ovaries of Freshwater Fish *Garra mullya* (Sykes). *Curr. Sci.*, 16:784-785.
- Ram, R. N., Sathyanesan, A. G., 1987. Effect of Long Term Exposure to Cythion on the Reproduction of the Teleost Fish, *Channa punctatus* (Bloch). *Environ. Pollut.*, 44:49-60.
- Rao, K. S. P., Rao, K. V. R., 1984a. Changes in the Tissue Lipid Profiles of Fish (*Oreochromis mossambicus*) During Methyl Parathion Toxicity-A Time Course Study. *Toxicology Letters, Vol. 21*, Issue. 2, May:147-153.
- Rao, K. S. P., Rao, K. V. R., 1984b. Impact of Methyl Parathion Toxicity and Eserine İnhibition on Acetylcholinesterase Activity in Tissues of the Teleost (*Tilapia mossambica*)-A Correlative Study. *Toxicology Letters, Vol. 22*, Issue.3, Semtember, 351-356.
- Reddy, P.M., Bashamoideen, M. D., 1989. Fenvalarate and Cypermethrin İnduced Changes in the Haematological Parameters of *Cyprinus carpio*. *Acta hydrochim. hydrobiol.*, 17: 1, 101-107.
- Roex, E. W. M., Keijzers, R., Van Gestel, C. A. M., 2003. Acetylcholinesterase İnhibition and İncreased Food Consumption Rate in the Zebrafish, *Danio rerio*, After Chronic Exposure to Parathion. *Aquatic Toxicology*, 64:451-460.

- Sadhu, A. R., Mukhopadhyaya, P. K., 1985. Comparative Effect of Two Pesticides Malathion and Carbofuran on Testes of *Clarias batrachus* (Linn.). *J. Environ. Biol.*, 6:217-222.
- Sağmanlıgil, H., Bilgili, A., Yarsan, E., Türel, İ., 1996. Van Gölünde Avlanan İnci Kefali Örneklerinde Organik Klorlu İnektisit Düzeyleri Üzerinde Araştırmalar. *Vet. Bil. Derg.*, 12, 2:69-72.
- Sahib, I. K. A., Sailatha, D., Rao, K. V. R., 1980. Impact of Malathion on Acetylcholinesterase in the Tissue of the Fish *Tilapia mossambica* (Peters)-A Time Course Study. *J. Biosci.*, Vol. 2, No. 1, March:37-41.
- Sancho, E., Fernandez-Vega, C., Sanchez, M., Ferrando, M.D, Andreu-Moliner, E., 2000. Alterations on AChE Activity of the Fish *Anguilla anguilla* as Response to Herbicide-Contaminated Water. *Environmental Research, Section B, Ecotoxicology and Environmental Safety*, 46:57-63.
- Santhakumar, M., Balaji, M., Ramudu, K., 1999. Effect of Sublethal Concentrations of Monocrotophos on Erythropoietic Activity and Certain Hematological Parameters of Fish *Anabas testudineus* (Bloch). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 63:379-384.
- Sarı, M., 1997. *Van Gölü İnci Kefali'nin (Chalcalburnus tarichi Pallas, 1811) Stok Miktarının Tahmini ve Balıkçılık Yönetim Esaslarının Belirlenmesi* (doktora tezi, basılmamış). Ege Üniv., Fen Bil. Enst., Bornova, İzmir.
- Sarı, M., Arabacı, M., 1997. İnci Kefali (*Chalcalburnus tarichi*, Pallas 1811) Populasyonunda Üreme ve Fekondite. *Akdeniz Balıkçılık Kongresi*, 9-11 Nisan 1997, İzmir. 537-544.
- Sarı, M., Küçüköner, E., Arabacı, M., 2004. Van Gölü İnci Kefalı'nın Endüstriyel Hammadde Olarak Değerlendirilebilme Olanaklarının Araştırılması. *KOSGEB Sonuç Raporu*. Van. 51.
- SAS, 1998. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

- Satake, T., Nuti-Sobrinho, A., Paula-Lopes, O.V., Lopes, R.A., Leme Dos Santos, H.S., 1986. Haematological Study of Brazilian Fish. III. Blood Parameters in Armored Catfish *Hypostomus paulinus* IHERING 1905 (Pisces, Loricariidae). *Ars Veterinaria, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias "Campus" de Jaboticabal Unesp*, 2, (2), Jaboticabal-SP-Brasil, 179-183.
- Saxena, K. K., Seth, N., 2002. Toxic Effects of Cypermethrin on Certain Hematological Aspects of Fresh Water Fish *Channa punctatus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 69:364-369.
- Saxena, P. K., Mani, K., 1985. Quantitative Study of Testicular Recrudescence in the Freshwater Teleost, *Channa punctatus* (Bloch) Exposed to Pesticides. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 34:597-607.
- Saxena, P. K., Mani, K., 1987. Effect of Safe Concentration of Some Pesticides on Testicular Recrudescence in the Freshwater Murrel, *Channa punctatus* (Bloch): A Morphological Study. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 14:56-63.
- Singh, S. K., Tripathi, P. K., Yadav, R. P., Singh, D., Singh, A., 2004. Toxicity of Malathion and Carbaryl Pesticides: Effects on Some Biochemical Profiles of the Freshwater Fish *Colisa fasciatus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 72:592-599.
- Sönmez, 2002. *Çinko'nun (Zn⁺²) İnci Kefalına (Chalcalburnus tarichi, Pallas 1811) Akut Toksisitesinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma* (yüksek lisans tezi, basılmamış). YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Sprague, J.B., 1990. Aquatic Toxicology. *Methods for Fish Biology* (Eds: Schreck, C.B., and Moyle, P.B.) American Fisheries Society Bethesda, Maryland. 491-528.
- Sturm, A., Wogram, J., Segner, H., Liess, M., 2000. Different Sensitivity to Organophosphates of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase from Three-Spined Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*): *Application in*

- Biomonitoring. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 19*, No. 6, 1607-1615.
- Sürücü, K., 2005. *Organik Fosforlu Pestisitlerden Malathion'un İnci Kefali (Chalcalburnus tarichi Pallas, 1811) Üzerindeki Akut Toksisitesinin Belirlenmesi* (yüksek lisans tezi, basılmamış). YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Svobodova, Z., Luskova, V., Drastichova, J., Svoboda, M., Zlabek, V., 2003. Effect of Deltamethrin on Haematological Indices of Common carp (*Cprinus carpio* L.). *Acta Vet. Brno*, 72:79-85.
- Şahan, A., Cengizler, İ., 2002. Seyhan Nehri (Adana Kent İçi Bölgesi)'nde Yaşayan Benekli Siraz (*Capoeta barroisi* Lortet, 1894) ve Kızılgöz (*Rutilus rutilus* Linnaeus, 1758)'de Bazı Hematolojik Parametrelerin Belirlenmesi. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 26:849-858.
- Şen, H., 1993. *Van Gölü'nde Avlanan Chalcalburnus tarichi (İnci Kefali) Balığında; Kurşun, Kadmiyum, Çinko ve Bakır Gibi Ağır Metallerin Birikim Düzeylerinin ve Toksik Etkilerinin Araştırılması* (yüksek lisans tezi, basılmamış). YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Takashima, F., Hibiya, T., 1995. *An Atlas of Fish Histology: Normal and Pathological Features*. Editors: F. Takashima, T. Hibiya. Second Edition. Kodansha Ltd., Tokyo, Japan. 195.
- Testereci, H., Sekin, S., Ekin, S., 1999. Van Gölü Balığı (*Chalcalburnus tarichi*)'nda Karbonin-Anhidraz'ın Esteraz Aktivitesi Üzerine Bir Çalışma. *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences*, 23, Ek sayı 1, 145-153.
- Tozlu, İ., 1997. *İnci Kefali (Chalcalburnus tarichi, Pallas 1811) Eritrositlerinden Afinite Kromatografisi ile Saflaştırılan Karbonik Anhidraz Enziminin Kinetik ve Elektroforetik Özelliklerinin İncelenmesi* (yüksek lisans tezi, basılmamış). YYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.

- Tozlu, İ., Arslan, O., 1997. Hydratase and Esterase Activity of Purified *Chalcalburnus tarichi* Fish Red Cell Carbonic Anhydrase İnhibition by Sulfonamides and Anions. *Bulletin of Pure and Applied Sciences, Vol.16*, C (no.1-2), 1-5.
- Uluköy, G., Timur, M., 1993. Sudak (*Stizostedion lucioperca* L. 1758) Balıklarında Farklı Konsantrasyonlardaki Bazı Pestisitlerin Oluşturabileceği Hematolojik ve Histopatolojik Değişimlerin İncelenmesi Üzerinde Bir Araştırma. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Su Ürünleri Dergisi, Cilt. 10*, sayı.37-38-39:35-54.
- USEPA, 1989. *Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms*. EPA 600/4-89/001. Office of Research and Development, U.S. EPA, Cincinnati, OH, USA.
- USEPA, 1991. *Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms*. EPA 600/4-90/027. Office of Research and Development, U.S. EPA, Washington, D.C., USA.
- Ünal, G., 2005. Balıklarda Histolojik Teknikler. Bölüm 11. *Balık Biyolojisi Araştırma Yöntemleri* (Ed. M. Karataş) Nobel Yayın No.772, Fen ve Biyoloji Yayınları Dizisi No.1, Ankara. 498.
- Ünal, G., Çetinkaya, O., Elp, M., 1999. İnci Kefalinde (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811) Gonad Gelişiminin Histolojik Olarak İncelenmesi. *Tr. J. of Zoology*, **23**, Ek sayı 1:329-338.
- Ünal, G., Çetinkaya, O., Elp, M., 2000. The Embryonic and Larval Development of *Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811 (Cyprinidae): an Endemic Fish Species of the Lake Van Basin, Turkey. *Bulletin of Pure and Applied Sciences, Vol. 19A*, (No.1), 27-41.

- Ünal, G., Çetinkaya, O., Kankaya, E., Elp, M., 2001. Histological Study of the Organogenesis of the Digestive System and Swim Bladder of the *Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811 (Cyprinidae). *Turk J Zool*, **25**: 217-228.
- Ünal, G., Türkoğlu, V., Oğuz, A. R., Kaptaner, B., 2007. Gonadal Histology and Some Biochemical Characteristics of *Chalcalburnus tarichi* (Pallas, 1811) Having Abnormal Gonads. *Fish Physiol Biochem*, **33**:153-165.
- Ünsal, M., 1998. *Kirlilik Deneyleri: Yöntemler ve Sonuçların Değerlendirilmesi*. TKB, Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Bodrum, Seri A, No.11, 168.
- Wheelock, C. E., Eder, K. J., Werner, I., Huang, H., Jones, P. D., Brammell, B. F., Elskus, A. A., Hammock, B. D., 2005. Individual Variability in Esterase Activity and CYP1A Levels in Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) Exposed to Esfenvalerate and Chlorpyrifos. *Aquatic Toxicology*, **74**:172-192.
- Wogram, J., Sturm, A., Segner, H., Liess, M., 2001. Effects of Parathion on Acetylcholinesterase, Butyrylcholinesterase, and Carboxylesterase in Three-Spined Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) Following Short-Term Exposure. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **Vol. 20**, No. 7, 1528-1531.
- Yıldırım, E., 2000. *Tarımsal Zararlılarla Mücadele Yöntemleri ve Kullanılan İlaçlar*. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 219, Erzurum. 344.
- Yıldırım, M. Z., Benli, A. Ç. K., Selvi, M., Özkul, A., Erkoç, F., Koçak, O., 2006. Acute Toxicity, Behavioral Changes, and Histopathological Effects of Deltamethrin on Tissues (Gills, Liver, Brain, Spleen, Kidney, Muscle, Skin) of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) Fingerlings. *Environ. Toxicol.*, **21**, (6):614-620.

Zexia, G., Weimin, W., Yi, Y., Abbas, K., Dapeng, L., Guiwei, Z., Diana, J. S.,
2007. Morphological Studies of Peripheral Blood Cells of the Chinese
Sturgeon, *Acipenser sinensis*. *Fish Physiol. Biochem.*, **33**:213-222.

ÖZ GEÇMİŞ

1971 yılında Konya ili Beyşehir ilçesi Kayabaşı köyünde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İzmir’de tamamladı. 1989 yılında Akdeniz Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Yüksek Okulu’nda Yüksek öğrenimine başladı. 1993 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi’nden Su Ürünleri Mühendisi unvanıyla mezun oldu. 1994-1995 yıllarında askerlik hizmetini tamamladı. 1996 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı’nda yüksek lisansa başladı. 1998 yılında yüksek lisansını tamamladı. 1999 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda doktora eğitimine başladı. Halen Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü’nde Arş. Gör. olarak çalışmakta olup, evli ve 3 çocuk babasıdır. 18. 07. 2008