

T. C.

**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ÇILDIR GÖLÜNDE AVLANAN HAVUZ BALIĞI (*Carassius gibelio*)
ÜZERİNE DELTAMETHRİN PESTİSİTİNİN ETKİLERİNİN
HİSTOPATOLOJİK, GENOTOKSİK, ELEKTROFORETİK VE
BİYOKİMYASAL YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

**Neriman GEY
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Yusuf ERSAN

OCAK-2016

KARS

Bu tez çalışması 2015-FM-07 numaralı proje ile Kafkas Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir

**T. C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ÇILDIR GÖLÜNDE AVLANAN HAVUZ BALIĞI (*Carassius gibelio*)
ÜZERİNE DELTAMETHRİN PESTİSİTİNİN ETKİLERİNİN
HİSTOPATOLOJİK, GENOTOKSİK, ELEKTROFORETİK VE
BİYOKİMYASAL YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

**Neriman GEY
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Yusuf ERSAN**

**OCAK-2016
KARS**

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zooloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Neriman GEY'in Yrd. Doç.Dr.Yusuf ERSAN'ın danışmanlığında Yüksek Lisans tezi olarak hazırladığı "Çıldır Gölü'nde Avlanan Havuz Balığı (*Carassius gibelio*) Üzerine Deltametrin Pestisitinin Etkisinin Histopatolojik, Genotoksik, Elektroforetik ve Biyokimyasal Yöntemlerle Araştırılması" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy.....*birliği*.... ile kabul edilmiştir.

.08. /01 /2016

Adı ve Soyadı

Başkan : Yrd .Doç.Dr Yusuf ERSAN

Üye : Ydr Doç Dr Celalettin GÖZÜAÇIK

Üye : Yrd .Doç.Dr.Evren KOÇ

İmza



Bu tezin kabulü Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun/...../2016 gün
ve/..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Doç. Dr. Özlem GÜRSOY KOL
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır. Çalışmada Çıldır Gölünden avlanan Havuz balığı (*Carassius gibelio*) üzerine Deltamethrin pestisitinin etkileri histopatolojik, genotosik, elektroforetik ve biyokimyasal yöntemlerle incelenmiştir. Tez konumun seçiminde, tezimin hazırlanmasında ve sonuçlandırılmasında yol gösterici olan, çalışmalarımda bilgi ve görüşlerinden faydalandığım değerli danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Yusuf ERSAN'a, laboratuar çalışmalarımda yardımcılarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Pınar AKSU'ya, Yrd. Doç. Dr. Evren KOÇ'a, Yrd. Doç. Dr İnan KAYA'ya, ve Yrd. Doç. Dr Özlem ÖNEN'e, Biyolog Hatice BEŞEREN'e, Biyolog Ebru ÇETİN'e ve Biyolog Zaide ÖZDEN'e; her zaman yanımdayan ve desteklerini esirgemeyen değerli eşim Doç. Dr. Hüseyin GEY'e, kızlarım Zehra Bahar ve Beril Buse'ye, çalışmalarımı maddi olarak destekleyen Kafkas Üniversitesi Araştırma Fonu'na ayrıca, emeği geçenlere teşekkürü bir borç bilirim.

Kars-2016

Neriman GEY

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
RESİMLER DİZİNİ	vi
KISALTMALAR VE SİMGELER	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Pestisitler	3
2.2. Pestisitlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	3
2.3. Pestisitlerin Toksik Etkileri	4
2.4. Deltamethrin Pestisiti Hakkında Kısa Bilgi	4
2.5. <i>Carassius gibelio</i> (Bloch, 1782) Hakkında Bilgi	5
2.6. Latel Doz 50 (LC ₅₀) Hakkında Bilgi	6
2.7. Çalışma Alanı Hakkında Bilgi.....	6
2.8. Literatür Özетleri	9
3. MATERİYAL VE METOD.....	15
3.1. Araştırma Yeri	15
3.2. Deney Hayvanı	15
3.3. Pestisit Materyali	15
3.4. Deney Düzeneği	15
3.5. Kan Örneklerinin Alınması	16
3.6. Histopatolojik Çalışmalar.....	16
3.7. Elekroforetik Çalışmalar	17
3.8. Genotoksik Çalışmalar	17

3.9. Biyokimyasal Çalışmalar	19
3.10. İstatistiksel Analiz	19
4. BULGULAR	20
4.1. Makroskopik Bulgular.....	20
4.1.1. Balıklarda Görülen Davranış Değişiklikleri	20
4.2. Mikroskopik Bulgular	21
4.2.1. Histopatolojik Bulgular.....	21
4.2.2. Elektroforetik Bulgular	37
4.2.3. Genotoksik Bulgular	39
4.2.4. Biyokimyasal Bulgular	41
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	44
6. KAYNAK	57
7. ÖZGEÇMİŞ.....	71

ÖZET

Bu çalışmada, Havuz balığının (*Carassius gibelio*) solungaç, kan, karaciğer ve bağırsaklarında Deltamethrin'in etkileri histopatolojik, genotoksik, elektroforetik ve biyokimyasal yöntemlerle araştırıldı. 60 adet balık, biri kontrol, diğer 4 grup deney olmak üzere 5 gruba ayrılarak incelendi. Kontrol grubu hariç, deney gruplarındaki balıklar 96 saat boyunca Deltamethrin'in sırasıyla 0,48 0,64 0,80 ve 0,96 mg/l konsantrasyonlarına maruz bırakıldı. Bu test süresince Deltamethrin'in etkisinde olan balıklarda morfolojik ve davranışsal anomalilikler gözlandı. Deney gruplarındaki balıklarda; solungaç epitel hücrelerinde hipertrofi, epitelin lameller ayrılması ve mukus hücre hipertrofisi; karaciğerde nekrozlar, vakuoler dejenerasyonlar ve nükleer hipertrofi; bağırsaklarda ise lezyonlar, mukus hücre proliferasyonu, ölü villus epiteli ve epitel dejenerasyonu görüldü. Biyokimyasal parametrelerden örneğin ALT, LDL ve kolestrol düzeyleri bulundu ve istatistiksel olarak önemli farklar saptandı ($p<0.05$). Ancak ALP, AST ve glukoz gibi parametrelerin düzeyleri arasında önemli farklar bulunmadı ($p>0.05$). Deltamethrin'in genotoksik etkisi mikronükleus testi ile belirlendi. Kontrol ve deney grupları arasında mikronükleus sıklıklarının farkları önemli idi ($p<0.05$). Kandan elde edilen serum örneklerinde sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezinden elde edilen elektroforegramda kontrol grubundaki balıkların protein bantlarına göre Deltamethrin'in farklı konsantrasyonlarının uygulandığı deney gruplarındaki balıkların protein bantlarında farklı incelme ve kalınlaşmalar saptandı. Sonuç olarak Deltamethrin, insan sağlığı ve çevre için çok toksik inektisitlerden biridir. Bu zehirli maddenin kontaminasyonundan sucul ekosistemleri korumak için gerekli önlemler alınmalıdır.

Anahtar Kelimeler: *Carassius gibelio*, Deltamethrin, Histopatoloji, Genotoksik, Elektroforetik, Biyokimyasal Metodlar

ABSTRACT

In this study, the effects of Delthametrin in the gill, liver, blood, liver and intestine tissues of Prussian Carp (*Carassius gibelio*) were investigated by histopathological, genotoxic, electrophoretic and biochemical methods. Sixty fish were divided into five groups, including a control and other four experimental groups. Except for the control group, the treatment groups were subject to the Deltamethrin at the concentrations of 0.48, 0.64, 0.80 and 0.96 mg/l. for 96 h, respectively. Morphological and behavioral anomalies of Prussian Carp individuals induced by Deltamethrin during 96 h. were observed. In the Deltamethrin treated groups; In gills, epithelial hypertrophy, lamella separation of the epithelium and hypertrophy of mucous cells were observed. In liver, there were necrosis, vacuolar degeneration, nuclear hypertrophy. The intestine lesions were epithelial degeneration, death of the villus epithelium, mucous cell proliferation, Biochemically such as ALT, LDL and cholesterol levels were detected and statistically there was significantly difference ($p<0.05$), but in the levels of ALP, AST, and glucose no significant difference were found ($p>0.05$). Micronucleus test was used for the determination of genotoxic effect of Deltamethrin. The differences of micronucleus frequencies between the control and the experimental groups were significant ($p<0.05$). Serum samples obtained from blood were carried out in Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE), in all experimental groups compared to the control group determined by electricalforegram SDS-PAGE, thickening and thinning of several protein bands were obtained. As a result, Deltamethrin is one of the most toxic insecticides for public health and the environment; therefore, its use in order to prevent the contamination of aquatic ecosystems should be discouraged.

Key Words: *Carassius gibelio*, Deltamethrin, Histopathology, Genotoxic, Electrophoretic, Biochemical Methods

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. Elektroforetik Bulgular.....	37
Çizelge 2. Deltamethrin uygulanan <i>Carassius gibelio</i> 'nın ortalama mikronükleus sayıları.....	39
Çizelge 3. Deney gruplarında ölçülen total antioksidan (TAS) ve total oksidan (TOS)'ın ortalama düzeyleri	41
Çizelge 4 . Deney gruplarında biyokimyasal parametrelerin ortalama düzeyleri.....	43

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Deltamethrin'in kimyasal yapısı.....	5
Resim 2. <i>Carassius gibelio</i> (Bloch, 1782), Havuz balığı (original).	6
Resim 3. <i>Carassius gibelio</i> örneklerinin alındığı Çıldır Gölü haritası.	8
Resim 4. Deneyde Kullanılan <i>Carassius gibelio</i> , Havuz balığı (Orjinal).	21
Resim 5. <i>Carassius gibelio</i> 'nun kontrol grubu bağırsak dokusu (H-E. X10)	22
Resim 6. <i>Carassius gibelio</i> 'nun kontrol grubu karaciğer dokusu (H-E. X10)	23
Resim 7. <i>Carassius gibelio</i> 'nun kontrol grubu solungaç dokusu (H-E. X10).....	24
Resim 8. Deltamethrin uygulanan 1.grup 0.48 mg/l bağırsak dokusu (H-E. X10)	25
Resim 9. Deltamethrin uygulanan 2.grup 0.64 mg/l bağırsak dokusu (H-E. X10)	26
Resim 10. Deltamethrin uygulanan 3. grup 0.80 mg/l bağırsak dokusu (H-E. X10)	27
Resim 11. Deltamethrin uygulanan 4.grup 0.96 mg/l bağırsak dokusu (H-E. X10)	28
Resim 12. Deltamethrin uygulanan 1.grup 0.48 mg/l karaciğer dokusu (H-E. X10)	29
Resim 13. Deltamethrin uygulanan 2.grup 0.64 mg/l karaciğer dokusu (H-E. X10)	30
Resim 14. Deltamethrin uygulanan 3.grup 0.80 mg/l karaciğer dokusu (H-E. X10)....	31
Resim 15. Deltamethrin uygulanan 4.grup 0.96 mg/l karaciğer dokusu (H-E. X10)	32
Resim 16. Deltamethrin uygulanan 1.grup 0.48 mg/l solungaç dokusu (H-E. X 10)....	33
Resim 17. Deltamethrin uygulanan 2.grup 0.64 mg/l solungaç dokusu (H-E. X10).....	34
Resim 18. Deltamethrin uygulanan 3.grup 0.80 mg/l solungaç dokusu (H-E. X10)....	35
Resim 19. Deltamethrin uygulanan 4.grup 0.96 mg/l solungaç dokusu (H-E. X10).....	36
Resim 20. Deltamethrin uygulanan <i>Carassius gibelio</i> 'nın SDS-PAGE yöntemiyle elde edilen serum proteinlerinin elektroferogramı.....	38
Resim 21. Deltamethrin uygulanan bir mikronukleuslu hücre.....	40
Resim 22. Deltamethrin uygulanan bir başka mikronukleuslu hücre.....	40

KISALTMALAR VE SİMGELER

Simgeler

°C	: Santigrat derece
µ	: Mikron
%	: Yüzde
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
gr	: Gram
kg	: Kilogram
km	: Kilometre
l	: Litre
m	: Metre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
rpm	: Devir / Dakika
sn	: Saniye
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
ppm	: Milyonda bir kısım (w/v)
h	: Saat

Kısaltmalar

AST	: Aspartat Aminotransferaz
ALT	: Alanin Aminotransferaz
ALP	: Alkalen Fosfataz
TAS	: Total Antioksidan Status
TOS	: Total Oksidan Status
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
LDL	: Low Density Lipoprotein
HDL	: High Density Lipoprotein
VDLD	: Very Low Density Lipoprotein
TG	: Trigliserit
LC₅₀	: Letal doz 50
SDS-PAGE	: Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi
Ca	: Kalsiyum

1. GİRİŞ

XVII. yüzyılın ortasından itibaren artmaya başlayan Dünya nüfusu çağımızda da hızla çoğalmaya devam etmektedir. Bu çoğalma besin üretiminden daha fazla olduğu için açlık sorunun ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Günümüzde bu sorunun çözüm yöntemlerinden başlıcaları nüfus planlanması, gıda açığının giderilmesi, birim alandan en yüksek verimi sağlayan entasif tarımın yapılması şeklinde sıralanabilir. Bu yöntemlerin en önemlilerinden biri de tarımsal etkinliklerde verimi artırmaktır. Ancak tarımda verimliliğin artışı bir çok etmene bağlıdır. Bunlardan biri de çeşitli zararlara karşı kimyasal savaştır. Bu savaşta kullanılan toksik etkiye sahip pestisit adı verilen tarımsal ilaçlar, hem kısa zamanda etkin hem de ekonomik ve kullanım kolay olması nedeniyle büyük önem kazanmıştır. Çünkü pestisitlerin hedef organizmadaki toksik etkisi insana kıyasla çok daha fazladır. Üstelik pestisitler; tarımsal etkinliklerde zararlara karşı yapılan bilinçsizce, yaygın ve aşırı ilaçlamalarla, pestisit fabrikalarının atıkları ile yağmur suları, drenaj suları ve sulama sularına karışarak toprağın emmesiyle toprağı, yeraltı sularını, gölleri, akarsuları ve denizleri kirletmektedir [1]. Ayrıca bu toksik maddeler sucul ekosistemdeki algler, midyeler, balıklar ve memeliler gibi canlılara zarar vermeye; ölmelerine neden olmakta hatta gıda zinciri yoluyla insan sağlığını da olumsuz yönde etkilemektedirler [2].

Pestisit, pest (haşarat) adı verilen zararlara öldürmek için kullanılan kimyasal maddelerdir. Tarımda üretimi ve dolayısıyle verimi olumsuz yönden etkileyen etmenlerin başında örneğin, yabancı otlar, funguslar, kemirciler ve böcekler gibi zararlara gelmektedir. Bunları kısa zamanda ortadan kaldırmak için pestisitler kullanılmaktadır. Dünyada toplam pestisit üretimi yıllık 3 milyon ton kadardır. Bu miktar pestisitin 29%'luk bölümünü insektisitler oluşturmaktadır. Türkiye'de pestisit üretimi ise 40 bin tondur [3]. Ülkemizde tüketilen pestisitlerin 47%'sini de insektisit oluşturmaktadır. Bu oranlar, ülkemizde insektisit kullanımının Dünya insektisit kullanımından daha fazla olduğunu göstermektedir. Yapılan araştırmalarla pestisitlerin

gelişmiş ülkelerde kullanımının giderek azalma göstermesine karşın az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde daha çok kullanılmaya devam ettiği ortaya konmuştur [4].

Böcekler, hayvanlar aleminin tür ve sayı bakımından en zengin sınıfıdır. Böylesine kalabalık böcek populasyonlarına karşı kullanılan pestisitlere de insektisit (böcek öldürücü) adı verilir. Pestisitler içinde yoğun ve yaygın olarak kullanılan, çevre ve insan sağlığı açısından önemli risk taşıyan insektisitlerden sentetik kimyasal madde Deltamethrindir [5].

Deltamethrin yüksek toksik etkiye sahip bir insektisittir. Bu insektisit memeliler ve kuşlar için genellikle riskli olmamasına karşın sinekler, istakoz ve karidesler, zooplankton kümüniteleri ve özellikle balıklar için son derece toksik etkiye sahiptir. Çünkü memelilerin metabolizma ve atılım gibi fizyolojik olayları hızlı olduğundan Deltamethrin'in toksik etkisi oldukça azalmaktadır. Halbuki, balıklarda bu insektisitin metabolizması ve atılması çok yavaş olduğu için toksik etkisi de fazla olmaktadır. Bu fizyolojik farklılık balıklarda Deltamethrin'in birikme potansiyelinin yüksek olduğunu göstermektedir. Örneğin, Deltamethrin'in 1991 ve 1995 yıllarının yaz mevsiminde Macaristan'da Balaton Gölünde 30 ton yılan balığının (*Anguilla anguilla*) kitle halinde ölümleriyle ekolojik bir felakete neden olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca bu gölden alınan sediment örneklerinde de Deltamethrin kalıntıları tespit edilmiştir [6].

Balıkların savunmasız hedef organı olan solungaçlar Deltamethrin'i yüksek dozda absorbe etmektedirler. Deltamethrin öncelikle toksik etkisini sinir, solunum ve hematolojik sistemler üzerinde göstermektedir [7, 8, 9]. Canlinin en önemli yaşamsal fonksiyonlarını yerine getiren bu sistemlerde Deltamethrin'in toksik etkisi aşırı ve yaygın kullanımı bu insektisitin Çıldır Gölünden avlanan havuz balıkları üzerindeki etkisinin araştırılmasında etken olmuştur [10, 11].

Bu çalışmada Havuz balıklarının (*Carassius gibelio*) kan, karaciğer, solungaç ve bağırsak dokuları üzerine Deltamethrin pestisitinin etkilerinin histopatolojik genotoksik, elektroforetik ve biyokimyasal yöntemlerle incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pestisitler

Pestisitler zararlılara karşı son derece etkili oluşuya tarımsal faydalarına karşın canlılar için zehirli maddelerdir. Bu kimyasal maddeler, çevreye yayılarak küresel düzeyde çevre kirliliği sorunlarının ortaya çıkmasına neden olmuş ve günümüzde çevre kirleticilerden biri olarak gündeme gelmiştir [12]. Bu kirleticilerin çevredeki kalıntılarının artması, insan ve hayvan sağlığına önemli ölçüde zararlı olduklarının anlaşılması pek çok ülkede pestisitlerin üretim ve kullanımına ilişkin katı yasal denetimler getirilmesine neden olmuştur [13].

Pestisitlerin sınıflandırılması:

Pestisitler kullanım alanlarına, etken maddenin kimyasal yapı ve grubuna ve toksisite derecelerine göre çeşitli şekillerde sınıflandırılırlar.

Pestisitler, etkili maddelerinin kökenlerine göre gruptara ayrılabılır:

1. İnorganik maddeler: Bakır sülfat, arsenik, kükürt vb.
2. Doğal organik maddeler
 - a) Bitkisel maddeler: Nikotin, rotenon, piretrin vb.
 - b) Organik çözücüler: Petrol yağları vb.
3. Sentetik organik maddeler
 - a) Klorlu hidrokarbonlar
 - b) Organik fosforlular
 - c) Diğer sentetik organik maddeler (azotlu bileşikler, piretroidler) [14, 15].

2.2. Pestisitlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Pestisitlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri aktivitelerinin ve sucul sistemler üzerindeki etkilerinin belirlenmesinde önemlidir [16]. Pestisitler farklı çözünürlük değerlerine sahiptirler. Çoğu pestisit için sudaki çözünürlük ppm (mg l^{-1}) seviyesindedir. Pestisitlerin sudaki çözünürlüklerine kimyasal yapılarının yanı sıra sıcaklık, pH, sudaki

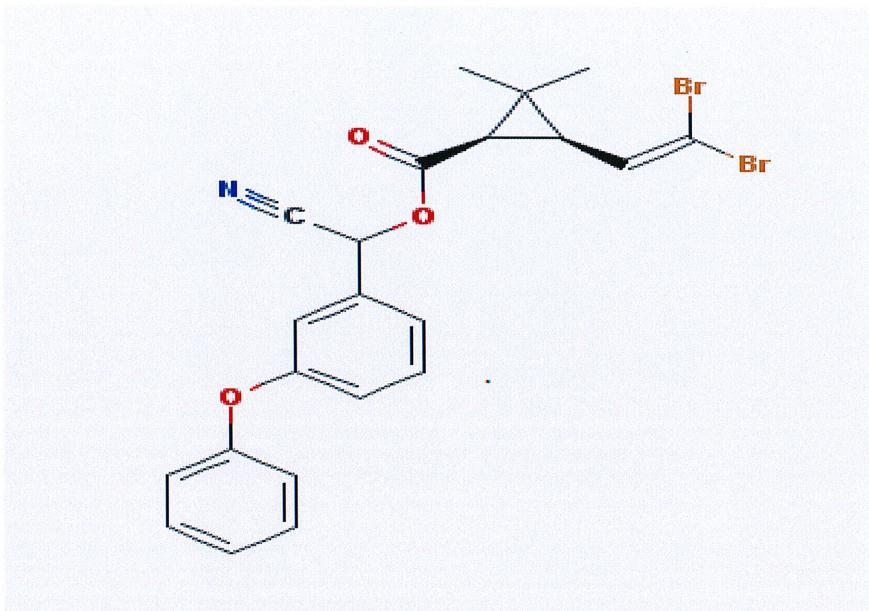
tuz ve organik madde derişimi gibi parametreler de etkilidir [17]. Pestisitin kimyasal yapısı, su sistemlerindeki kararlılığını belirler. Pestisitlerin kararlılıklarını, kalıntı olarak yıllarca dayanabilen çok kararlı bileşiklerden birkaç saat içinde bozunan bileşiklere kadar değişimdir. Su ekosistemindeki kararlılık organoklorürlü, organofosforlu ve karbamatlı insektisitler sırasına göre azalmaktadır. Kararlı pestisitler su ekosistemi için potansiyel bir tehlike olup uygulanma sonrasında organizmalar uzun süre pestisitlere maruz kalacaklarından kararlı pestisitlerin balık ve diğer sucul organizmalarda birikme potansiyeli yüksektir [18].

2.3. Pestisitlerin Toksik Etkileri

Pestisitlerin ortamda ve dolayısıyla canlıda birikerek toksik, genotoksik veya kanserojenik etki gösterebildikleri bilinmektedir. Bu etkilerin bazıları organizma veya ekosistem üzerinde hemen görülebildiği halde, bazıları ise uzun bir zaman sürecinden sonra kendilerini gösterirler. Pestisitlerin genel olarak ekosistem içerisinde akut öldürücü etkisi olmadığı, ancak besin zinciri yoluyla organizmadan organizmaya geçerek miktarlarının yükseldiği ve belli düzeylerden sonra da toksik etki yaptığı bilinmektedir [19].

2.4. Deltamethrin Pestisiti Hakkında Kısa Bilgi

Deltamethrin sentetik piretroid grubu bir pestisittir. Formülü ($C_{22}H_{19}Br_2NO_3$) olup, beyaz renkli ve kristalimsi toz halindedir. Sentetik piretroitler, ışığa dayanıklı ve kalıntı etkisi yüksek insektisitler olarak tarımda yaygın olarak kullanılmaktadır. İnsanlar üzerinde sistemik ve akut toksisiteleri düşüktür, ancak böcekler ve balıklar için son derece zehirlidir. Çok sayıda zararlı için kullanılabilir [5, 20]



Resim 1. Deltamethrin'in kimyasal yapısı

2.5. *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) Hakkında Bilgi

Cyprinidae familyasına mensuptur. Köylü sazanı, Tas sazanı veya Turba sazan adları da verilen Havuz balığına Çıldır'da yöresel olarak korsan adı verilmiştir. Bu balığın gerek vücut sekli ve gerekse dorsal ve anal yüzgeçlerinin 3. basit ısnınlarının testere seklinde dişlenmiş olmasıyla *Cyprinus carpio* türüne benzerse de, ağızının bıiksız, kuyruk yüzgeçlerinin daha az girintili ve farinks dişlerinin tek sıralı olmasıyla kolayca ayrılmaktadır. Ağız küçük ve terminaldir. Dorsal yüzgeçin kaidesi oldukça uzun ve serbest kenarı özellikle erginlerde hafif yuvarlaktır. Renk çok değişken olmakla beraber, çoğu kez sırtı yeşil-kahverengi, yan tarafları sarı veya kırmızımsı, karın bölgesi ise, sarı-beyazdır. Sazanlarda olduğu gibi, durgun sığ sularda, bitkilerin yoğun olduğu kıyı zonlarında yaşar. Havuz ve gölcüklerin dibindeki yumuşak çamura gömüllerken kişi geçirirler. Çok dayanıklı balıklardan olduğu için çeşitli ortamlarda yaşama olanağı bulabilmektedir. Suda erimiş oksijen miktarı minimum değerinin 1/10 una kadar düşse bile, yine de yaşamalarını sürdürbilirler. Bu balıkların anavatanı Asya olmakla beraber, sonradan çeşitli amaçlarla Avrupa ülkelerine taşınmışlardır. Genellikle Doğu ve Orta Avrupa, Azak Denizi ve Karadeniz bölgesindeki göllerde yayılma gösteren bu tür, Anadolu'da Çoruh nehri, Samsun civarı, Trakya bölgesi ve Sapanca gölünde

bilinmektedir. Havuz balığı omnivor bir beslenme göstermektedir. Eti kılçıklı olmasına karşın, lezzetli olduğu için ekonomik değeri vardır [21].



Resim 2. *Carassius gibelio* (Bloch, 1782), Havuz balığı (original).

2.6. Latel Doz 50 (LC_{50}) Hakkında Bilgi

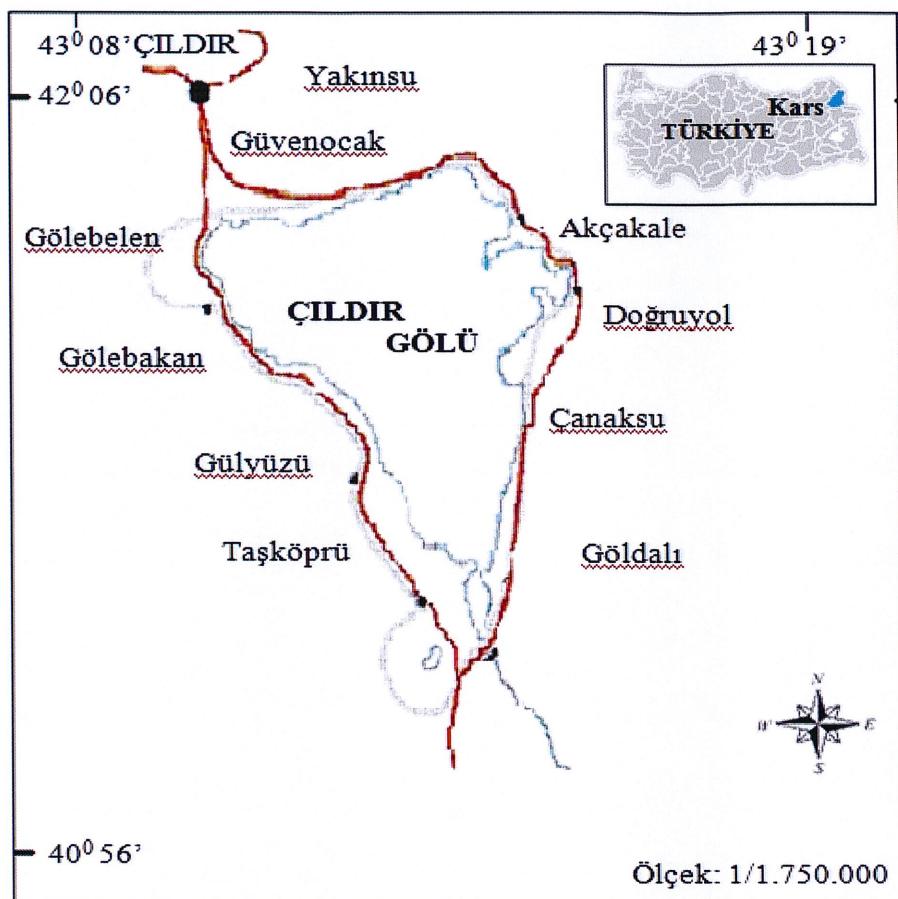
Latel Doz 50 (LC_{50}) toksisitenin bir ölçütüdür. LC_{50} test edilen hayvanların belli bir süre zarfında yarısını öldüren maddenin konsantrasyonudur. Bu öldürücü konsantrasyon hava ya da su ortamında bulunabilmektedir. Eğer LC_{50} bir balık türü için mevcut ise, sudaki toksik konsantrasyonu su ortamında mevcut olan balıkların yarısını öldürecek olan seviyelerde demektir [22].

2.7. Çalışma Alanı Hakkında Bilgi

Bu araştırmada incelenen balıklar, 2015 yılında Doğu Anadolu bölgesinin Van Gölünden sonra ikinci büyük gölü olan Çıldır Gölünden sağlanmıştır. Bu göl volkanik bir alanda Kısır Dağı ile Akbaba Dağı arasında oluşmuş bir lav set gölüdür. Ardahan ve Kars İlleri sınırları içersinde kalan Çıldır Gölü, $41^{\circ} 00'$ kuzey enlemi ile $43^{\circ} 12'$ doğu boylamı üzerinde yer almaktadır. Çıldır'ın Kars il merkezine uzaklığı 76 km.dir. Genişliği kuzeyde 15 km, uzunluğu ise yaklaşık 18 km olup deniz seviyesinden yüksekliği 1959 metredir. En derin yeri 30 m., yüzey alanı 124 m^2 dir.

Göl, kar suları, kaynak suları ve özellikle yağışlı dönemlerde dağlardan akan derelerle beslenir. Gülyüzü Köyü’ndeki Büyük Çay, Gölebakan Köyü’nden gelen Yan Dere, Doğru yol Köyü’nden geçen dereler, sürekli su sağlar. Göl, güneye doğru daralır, daha sonra genişler. Bu kısım Küçük Göl diye de adlandırılmaktadır. Göl suları, buradan Çara Deresi ile Arpaçay'a akar. Kışın sonunda ve ilkbaharda su seviyesi en yüksek değerine ulaşır. Gölün yağış alanı 640 km^2 dir. Göl'ün doğusunda Gürcistan, kuzeyinde Çıldır, güneyinde Arpaçay ve batısında Ardahan ili bulunmaktadır. Göl kıyısında 12 köy vardır. Kuzeybatısında ince uzun lav seti Göl'ü, Çıldır düzüğünden ayırr. Göl'ün doğusu ve batısı dağlarla çevrilidir. Kuzeyinde ve güneyinde ince kumlu sahiller, kıyılarında saz, kamış şeritleri ile tarım alanları yer alır. Çıldır Gölünden ayrılan Çara deresi Arpaçay ile birleşir. Gölde buzlanma Kasım ayının yarısından sonra başlamakta, Nisan ayının sonlarına kadar sürmektedir. Buz kalınlığı ortalama 60-70 cm arasında değişmektedir. En fazla buz kalınlığı 110 cm olarak ölçülmüştür. Buz kalınlığı iklimsel koşullara göre değişmektedir [23].

Çıldır Gölü’nde tatlı su istakozu bol olarak bulunmaktadır. Bu su ürünü, ticari öneme sahip olup ihraç edilmektedir. Tatlı su istakozu yanında Sazan balığı, Siraz balığı, Tatlı su kefali ve Havuz balığı gibi ekonomik değeri olan balık türleri de Çıldır Gölünde bulunmakta ve avlanmaktadır. Kars ve civarında bu su ürünlerini sevilerek tüketildikleri için yöre balıkçılarının ekonomilerine büyük ölçüde katkı sağlamaktadır [24].



Resim 3. *Carassius gibelio* örneklerinin alındığı Çıldır Gölü haritası.

2.8. Literatür Özeti

Deltamethrin pestisitinin farklı balıklar üzerinde akut toksik etkisine dair çalışmalar mevcuttur. Bunlardan bazıları aşağıda verilmiştir.

Yıldırım vd. (2006) *Oreochromis niloticus*'da Deltamethrin'in akut toksik etkisi, davranış değişimleri ve dokularda histopatolojik etkilerini araştırdıkları çalışmada 48 saatlik LC₅₀ değeri 4.85 µg/l olarak tespit etmişlerdir [25].

Kan vd. (2012) Deltamethrine maruz bırakılan *Oreochromis niloticus*'un eritrositlerindeki mikronükleus frekansı ve solungaç, karaciğer dokusundaki histopatolojik değişimlerdeki E vitaminin rolünü araştırmışlardır. Çalışmada E vitamininin, Deltamethrin tarafından uyarılan genotoksiste ve histopatolojik değişiklikleri azalttığını belirtmektedirler [26].

Köprücü vd. (2004) *Cyprinus carpio*'nun embriyo ve larvalarında Deltamethrin'in genotoksik etkisini araştırdıkları çalışmada 48 saatlik LC₅₀ değeri embriyo ve larvada sırasıyla 0.213 ve 0.074 µg/l tespit edilmiştir [27].

Ansari vd. (2009) *Channa punctata* eritrositlerinde Deltamethrin'in genotoksik etkisi ve yarattığı oksidatif stresi inceledikleri çalışmada balıklar 48 ve 72 saat süresince 3 farklı Deltamethrin konsantrasyonuna (0.4, 0.8, 1.2 µg/l) maruz bırakılmıştır. 72 saat sonunda eritrositlerde loblu, çentikli ve ikili nukleus tiplerine rastlanmıştır [28].

Amin vd. (2012) Deltamethrin'in yol açtığı oksidatif stres ve yayın balığının karaciğer, böbrek solungaç doku ve kanındaki biyokimyasal değişikleri inceledikleri çalışmada ek olarak Deltamethrin kaynaklı oksidatif stres üzerine Alfa-tokoferol'un koruyucu etkisini araştırmışlardır [29].

Çalta vd. (2004) Deltamethrin'in aynalı sazanlarının (*Cyprinus carpio*) genç bireylerinde akut toksik etkisini belirledikleri çalışmada 96 saatlik LC₅₀ değeri 1.65 µg/l olarak tespit edilmiştir [30].

Ural ve Sağlam (2005) Deltamethrine maruz kalan *Oncorhynchus mykiss* üzerindeki akut toksik etkisi ile ilgili çalışmalarında 96 saatlik LC₅₀ değeri 0.6961 µg/l olarak tespit edilmiştir [31].

Cengiz (2006) Deltamethrin'in *Cyprinus carpio* solungaçlarında meydana getirdiği histolojik değişimleri incelemiştir ve 0.029 mg/l konsantrasyona maruz kalan bireylerin solungaç dokularında epitel ayrılması ve ödem gözlendiğini bildirmiştir. 0.041 mg/l konsantrasyona maruz kalan bireylerin solungaç dokularında ise epitelyum hiperplazisi, sekonder lamellerde kaynaşma, anevrizma ve deskuamasyon kaydedilmiştir [32].

Cengiz vd. (2006) Deltamethrin'in sublethal konsantrasyonlarına maruz bıraktıkları *Gambusia affinis*'in solungaç dokularında epitel ayrılması ve ödem, sekonder lamellerde füzyon, primer lamellerde hemoraji, nekroz ve deskuamasyon, karaciğer dokularında bulanık şişme, yağ dejenerasyonu ve nekroz gibi lezyonlar gözlemlenmiştir [33].

Maynart vd. (2012) organoklorin yapılı bir pestisit olan Endosülfan ile Zebra balıklarını (*Danio rerio*) 96 saat boyunca bu kimyasalın farklı dozlarına (0.6, 1.2, 2.4, 5.0, 10.0 ve 50 µg/l) maruz bırakılmışlardır. Araştırmada balıkların yüzme aktiviteleri incelenmiştir. Endosülfanın 2.4 µg/L dozuna maruz olan grupta kontrol grubuna kıyasla yüzme aktivitelerinde yavaşlama olduğu bildirilmiştir [34].

Almeida vd. (2010) yapıtları bir çalışmada *Dicentrarchus labrax* 96 saat boyunca Fenitrothion'un sub-lethal dozlarına maruz bırakılmış ve söz konusu insektisitin yüzme hızını dönemli derecede azalttığını ifade etmiştir [35].

Boran vd. (2010) Maneb ve Karbarıl'ın Gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) juvenillerinin üzerine olan akut toksisitesinin değerlendirildiği bir çalışmada bu kimyasallara maruz kalan balıkların epitelyumlarda nekroz, ödem ve şişlik oluştuğu, solungaçlarında hiperplazi, balıkların karaciğer, böbrek ve dalaklarında nekroz ve iltihaplanmaların olduğu gözlenmiş, Maneb ve Karbarıl'ın histopatolojik lezyonlarının benzer olduğu ve en çok etkilenen organların da solungaç, böbrek ve karaciğer olduğu ifade edilmiştir [36].

Çapkin vd. (2009) üç farklı gübrenin sub-kronik toksisitesinin Gökkuşağı alabalığı juvenillerinin (*O. mykiss*) deri, böbrek, karaciğer, pankreas ve solungaç dokularına olan etkilerini inceledikleri bir araştırmada, iki haftalık deneme süresi sonunda deri, solungaç, karaciğer ve böbrek yüzeyinde histolojik lezyonların gözlemlendiği, epidermis hücrelerinde dejenerasyon ve mukus hücrelerinde ödemlerin olduğunu bildirmiştir [37].

Nemcsok vd. (1988) Bakır sülfat pentahidrat pestisitinin, Gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) üzerindeki fizyolojik etkilerinin araştırıldığı çalışmada balıklar 48 saat boyunca bu kimyasalın 200 ile 2000 µg/l'lik dozlarına maruz bırakılmıştır. Araştırma sonucunda, ilk 24 saat içerisinde 2000 µg/l bakırın, kan glikoz aktivitesinin, ALT ve AST seviyelerinin artmasına, 48 saatte ise kan glikoz aktivitesinin ve ALT ve AST'nin azalmasına sebep olduğu belirtilmiştir. Her bir bakır konsantrasyonunda ise özellikle asetilkolinesteraz enzimi aktivitesinde azalmaya sebep olduğu incelenmiştir. Bakır sülfatın 200 µg/l konsantrasyonunda ise ilk 24 saat içerisinde dokularda önemsiz zararlar ve biyokimyasal ve hematolojik parametrelerde yine önemsiz etkiler olduğu rapor edilmiştir [38].

Bir sentetik piretroit olan Cypermethrinin subletal dozları gökkuşağı alabalıklarında (*O. mykiss*) patolojik ve histopatolojik bulgular yanında eritrosit sayısı (RBC), trombosit sayısı, hemoglobin değeri ve eritrosit - sedimentasyon oranında artışa; toplam lökosit sayısı (WBC) ve hematokrit yüzdesinde ise azalışa sebep olmaktadır. Kan biyokimyasına bakıldığına ise alkalin fosfataz (ALP), aspartat aminotransferase (AST=GPT) ve laktat dehidrogenaz (LDH) enzimlerini yükseltirken, glutamik oksaloasetik transaminaz (GOT), kolesterol, kalsiyum ve fosfor düzeylerini ise düşürdüğü; bunun yanısıra glikoz, kreatin, toplam protein ve sodyum değerlerinde ise farklı dozlarda farklı tepkiler alındığı bildirilmiştir [39, 40, 41].

Çoğun vd. (2013) Nil tilapia (*Oreochromis niloticus*) balıklarında Dimethoat'ın farklı konsantrasyonlarının (0.4, 4 ve 8 mg/l) 24, 48 ve 96 saat süre ile akut toksisitesinin kan ve karaciğer dokularında ALT ve AST düzeylerini araştırmışlar ve bu kimyasalın

kan ve karaciğer dokusunda AST ve ALT düzeylerini artırma eğilimi gösterdiğini rapor etmişlerdir [42].

Gholami-Seyedkolaei vd. (2013) Glyphosate'ın Sazan balıklarının (*Cyprinus carpio*) biyokimyasal ve hematolojik parametreleri üzerine olan etkileri 16 gün 4 farklı konsantrasyonlarda (3, 5, 7 ve 14 ppm) araştırılmış, eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarının (MCH) ve ortalama eritrosit hacminin (MCV) artığı; hemoglobin (Hb), hematokrit (HCT) miktarı ile kırmızı (RBC) ve beyaz (WBC) kan hücreleri sayısının önemli derecede azaldığı gözlenmiştir. AST, ALT ve LDH aktiviteleri değerlerinin kontrol grubuna kıyasla yüksek olduğu belirtilmiş; ALP seviyesinde azalma meydana geldiği açıklanmıştır [43].

Velisek vd. (2011) farklı konsantrasyonlardaki (0.02, 0.2 ve 2 µg/L) Terbütrin'in Sazan balıklarının (*Cyprinus carpio*) hematolojik ve biyokimyasal parametreleri üzerine olan etkilerini araştırdıkları çalışmada 0.2 ve 2 µg/L konsantrasyonlara maruz kalan balıkların eritrosit sayısı, eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonunda artış; ortalama eritrosit hacmi ve lökosit sayısının azalış gösterdiğini bildirmiştir. Biyokimyasal incelemelerde ise, 0.2 ve 2 µg/L konsantrasyonlarına maruz kalan grplarda keratin ve magnezyum seviyelerinde azalma gözlenirken glikoz, laktat, ALT ve LDH seviyelerinde kontrol grubuna kıyasla artış tespit etmişlerdir [44].

Harabawy vd. (2014) Karabalıklara (*Capoeta gariepinus*) 35 günlük deneme sonunda Karbofura'nın sub-lethal dozlarının etkilerinin araştırıldığı çalışmada bazı kan parametreleri incelenmiştir. Eritrosit sayıları, hemoglobin ve hematokrit konsantrasyonları, ortalama eritrosit başına düşen hemoglobin konsantrasyonu düşüş; ortalama eritrosit hacmi ve ortalama eritrosit başına düşen hemoglobin seviyeleri ve lökosit sayılarında artış; biyokimyasal parametrelerden ALT, AST ve ALP aktivitelerinde toplam protein, albümin konsantrasyonu ve globulin seviyelerinde düşüş; plazma glikoz, toplam lipid ve keratin seviyelerinde ise artış bildirilmiştir [45].

Velisek vd. (2010) farklı konsantrasyonlarda (0.02, 4, 20 ve 40 µg/l) olan Terbütrin'in Sazanlarda (*Cyprinus carpio L.*) meydana getirdiği sub-kronik etkileri üzerine yapılan

bir çalışmada balıklar 28 gün boyunca Terbütrin'e maruz bırakılmışlardır. Deneme sonunda balıkların hematolojik ve biyokimyasal parametreleri incelenmiştir. $0.02 \mu\text{g/l}$ Terbütrin'e maruz kalan grupta etki görülmemiş, 4, 20 ve $40 \mu\text{g/l}$ Terbütrin'e maruz kalan grupların eritrosit sayılarında, amonyak seviyelerinde, AST, LDH, keratin kinaz ve laktat aktivitelerinde artış gözlenmiştir. Kreatin, ortalama eritrosit hacmi ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin seviyelerinde ise düşüşün meydana geldiği ifade edilmiştir [46].

Crupkin vd. (2013) Tatlı su balıklarında genotoksik etkiler ile birlikte antioksidan enzim aktivitelerinin kısa süreli cevaplarının incelendiği bir araştırmada Mücevher çiklit balıkları (*Australoheros facetus*) 24 saat süresince farklı konsantrasyonlarda (0.02, 0.5, 5 ve 10 mg/l) Endosülfana maruz bırakılmışlardır. Genotoksik etkiler incelendiğinde, 0.02 mg/l doza maruz kalan grupta çekirdeksel anomalilerin artışı, 5 mg/l doza maruz kalan grupta ise mikroçekirdek sıklığının artışı tespit edilmiştir [47].

Golow ve Godzi (1994) *Oreochromis niloticus*'da Deltamethrin için 96 saatlik LC₅₀ değerini $14.5 \mu\text{g/l}$ olarak tespit etmişlerdir. Dieldrine ait veriler ile karşılaştırıldığında Deltamethrin Dieldrin'e göre daha toksik olduğunu belirtmektedirler [48].

Al-Ghanbous vd. (2012) *Aphanius dispar*'ın solungaçları üzerinde Deltamethrin etkisini arastırdıkları çalışmada balıkları 3 ayrı konsantrasyona (2.25 , 2.50 , $3.00 \mu\text{g/l}$) maruz bırakmışlar. Deney sonucunda en büyük hasarı $3.00 \mu\text{g/l}$ uygulanan grupta gözlemlediklerini belirtmişlerdir [49].

Sharma ve Ansari'nin (2010) Deltamethrin ve Achook pestisitlerinin Zebra balığının (*Danio rerio*) üreme yeteneğine etkisini arastırdıkları çalışmada subletal doz olarak Deltamethrin için $0.016 \mu\text{g/l}$, achook için $0.025 \mu\text{g/l}$ kullanılmış ve 3 ay süresince balıklar bu dozlara maruz bırakılmıştır. Deney sonucunda yumurta veriminin Deltamethrin uygulanan grupta %54.12, Achook uygulanan grupta %17.81 oranında azaldığını tespit etmişlerdir [50].

Velisek vd. (2007) *Oncorhynchus mykiss*'de Deltamethrin'in etkisini araştırdıkları çalışmada LC₅₀ değerini 0.02 mg/l olarak tespit etmişlerdir. Akut toksisite testi sonunda hematolojik, biyokimyasal ve histolojik incelemelerde bulunmuşlardır [51].

El-Sayed ve Saad (2007) yapmış oldukları çalışmada Deltamethrine maruz kalmış *Oreochromis niloticus*'un karaciğer dokularında 1 hafta sonra hepatositlerde orta yağı vakuolleşme, solungaçlarında 3 hafta sonra sekonder lamellerde epitelyum hiperplazisi, 4 hafta sonra lamellerde ciddi derecede nekroz gözlemlemişlerdir [52].

Kumar vd. (1999) Deltamethrin'in *Heteropneustes fossilis* üzerine akut toksik etkisini araştırdıkları çalışmada LC₅₀ değerini 0.52 mg/l olarak tespit etmişlerdir [53].

Svobodova vd. (2003) Deltamethrin'in juvenil *Cyrinus carpio*'larda hematolojik değişimlerini inceledikleri çalışmada 96 saatlik LC₅₀ değerini 0.058 mg/l olarak tespit etmişlerdir [54].

Data vd. (2003) *Clarias gariepinus* üzerinde Deltamethrin'in akut toksik etkisini araştırdıkları çalışmada Deltamethrin iki ayrı çözücüde (su ve aseton) çözüdürülverek karşılaştırılmıştır. 96 saat sonunda su kullanılarak hazırlanan stokta LC₅₀ değeri 40.01 mg/l tespit edilirken, aseton kullanılarak hazırlanan stokta LC₅₀ değerinin 0.004 mg/l olarak tespit edildiği belirtilmektedir [55].

Verep vd. (2006) *Leuciscus cephalus*'da Deltamethrin'in 96 saatlik LC₅₀ değerini 5.226 µg/l olarak tespit etmiştir [56].

Balint vd. (1995) Deltamethrine maruz kalmış sazanların 3 gün sonra beyin, kan, kalp, karaciğer ve iskelet kaslarındaki asetilkolinesteraz aktivitesinde % 20 azalma gözlemlemişlerdir [57].

3. MATERİYAL VE METOD

3.1. Araştırma Yeri

Çalışma 2015 yılında Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Genel Zooloji laboratuvarında yürütüldü.

3.2. Deney Hayvanı

Deney hayvanı olarak kullanılan Havuz balıkları (*Carassius gibelio*) Çıldır Gölünden sağlandı. Araştırma esnasında balıklar ticari yemle beslendi.

3.3. Pestisit Materyali

Araştırmada Deltamethrin pestisiti kullanıldı. Bu pestisit bir insektisit olup ticari ürün adı dentist 25 EC (Emülsiyon Konsantre)'dır. Bu ürün litrede 25 gr Deltamethrin içermektedir.

3.4. Deney Düzeneği

Bu araştırma Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan (KAÜ-HADYEK) 2014-035 kodlu etik kurul onayı ile yapıldı. 2015-FM-07 numaralı proje ile Kafkas Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

Çıldır Gölünden yakalanan *Carassius gibelio*'lar canlı halde laboratuara getirilerek 200 litrelik tanklara yerleştirildi. Deneylere başlamadan önce tankların içi hiçbir yabancı madde kalmayacak şekilde iyice yıkandı, temizlendi. Deney için kullanılan balıkların cinsiyet ayrimı gözetilmeksızın yaşıları 1⁺, ağırlıkları 130-180 gr ve boyları da 20-25 cm arasında idi. Gece ve gündüz periyodunun 12/12 olması sağlandı. Çalışma süresince

su kalitesi ile ilgili en önemli parametrelerden pH 8.0-8.2, çözünmüş oksijen miktarı 4.90-10.50 mg/l ve sıcaklığı 17.5-18.0 °C arasında değiştiği rapor edildi [58].

Balıklar, 15 gün süreyle ortama adaptasyonları sağlandıktan sonra deneye alındı. Deney için 60 adet balık kullanıldı. Balıklar, her bir grupta 12 balık bulunan, biri kontrol diğer dört grup deney olmak üzere 5 gruba ayrıldı. Deneyde insektisit materyali olarak bir sentetik piretiroid olan Deltamethrin kullanıldı. Deneylerde akut-statik deney yöntemi uygulandı. Bu yönteme göre kontrol grubu dışında diğer grupların her biri için 0.48, 0.64, 0.80, 0.96 mg/l konsantrasyonlarda Deltamethrin çözeltisi hazırlandı. Balıklar 96 saat süreyle test konsantrasyonlarında Deltamethrine maruz bırakıldı. Tanklardaki balıklardan deney süresi sonunda histopatolojik, elektroforetik, genotoksik ve biyokimyasal çalışmalar için kan ve doku örnekleri alındı. Akut toksisite testi gerçekleştirildi. Alınan kan numuneleri +4 °C ve 3000 rpm' de 10 dk santrifüj edilerek serumun ayrılması sağlandı. Elde edilen serumlar analizler yapılmaya kadar 20 °C' de saklandı. Ayrıca, örneklerin protein konsantrasyonları biüret yöntemi ile ölçüldü [59].

3.5. Kan Örneklerinin Alınması

Kan örnekleri alınmadan önce balıklarımızın bulunduğu ortama Tricaine metansülfonat (MS-222) eklenecek balıklar bayıldı. Balıkların kaudal venasından girilerek 4 ml kan alındı ve analiz için heparin içeren kan tüplerine aktarıldı. Santrifüjenerek süpernatant kısmı ependorf tüplerine alındı. [60, 61].

3.6. Histopatolojik Çalışmalar

Çalışma süresi sonunda balıklardan alınan bağırsak, karaciğer ve solungaç doku örnekleri % 10'luk Formaldehit solüsyonunda 48 saat tespit edildi. Doku örneklerinden 2-4 μ kalınlığında kesitler alındı. Rutin histolojik metodlarla preparatlar hazırlanarak Hematoksiyan-Eozin (H-E) boyama metoduyla boyanıp ışık mikroskobunda (Olympus PM 10 A) değerlendirildi.

3.7. Elektroforetik Çalışmalar

Alınan kan örnekleri +4°C ve 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek serumun ayrılması sağlandı. Alınan serumlar analizler yapılincaya kadar -20°C'de saklandı. Örneklerin protein konsantrasyonları biüret yöntemi ile ölçülerek SDS-PAGE işlemi Laemmli ve O'Farrell metodlarına göre yapıldı. Proteinler 16x10 cm boyutlarında ve 1 mm kalınlığında slab jelde ayrıldı. Slab jel, proteinlerin stoklandığı yoğunlaştırıcı ve daha sonra da proteinlerin ayrıldığı ayırcı jel kısımlarından meydana geldi. %10 akrilamid içeren ayırcı jel elektroforez işleminden 12 saat önce hazırlandı, polimerize edilerek bir gece buzdolabında saklandı. %4 akrilamid içeren yoğunlaştırıcı jel ise elektroforez işleminden 2 saat önce hazırlandı, polimerize edildi. Her örnek ve standart %10 Gliserol, %2 Merkaptoetanol (2-ME), %2 Sodyum dodesil sülfat (SDS), %0.01 Brom fenol blue (BFB) içeren örnek tamponu ile karıştırılarak protein konsantrasyonları sırası ile 2 µg/µl ve 0.2 µg/µl'ye ayarlandı ve daha sonra örnekler ve standart proteinler kaynar suda 3 dk bekletilerek proteinlerin denatürasyonu sağlandı. Yoğunlaştırıcı jelden her bir jel çukuruna 20 µl serum örneği ve standart protein uygulanarak Brom fenol blue jelin en alt kısmına gelinceye kadar jele 200 voltluk gerilim verildi. Elektroforez işlemi sonrası jeller, %0.125 Coomassie blue R-250, %40 Metanol ve %7 Asetik asit bulunan boyalı çözeltisi içerisinde su banyosunda 56°C'de 20-30 dk.'da boyandı. Jeldeki fazla boyalı boyalı %5 Metanol ve %7.5 Asetik asit içeren çözelti ile su banyosunda 56°C'de her 20 dakikada bir çözelti değiştirilmek suretiyle 1 saatte renk giderildi (dekolore edildi). Elektroforez uygulamasında protein standardı olarak Sığır albumini (66 kD), Yumurta albumini (45 kD) ve Tripsinojen (24 kD) kullanıldı [62].

3.8. Genotoksik Çalışmalar

Pestisitlerin canlıda mutasyonlara neden olup olmadıklarının gösterilmesi son derece önemlidir. Bu kimyasal maddelerin genetik materyal üzerine etkisi genotoksik testler ile değerlendirilmektedir. Bu testler Kromozom Aberasyonu, Mikronukleus ve Kardeş Kromatid Değişimi gibi yöntemlerdir. Çalışmamızda Deltamethri'nin genotoksik etkisi mikronukleus testi uygulanarak belirlenmiştir.

Bu test yöntemi ilk defa 1970'lerin ortalarında tanıtılmıştır [63]. Mitotik hücre bölünmesinin metafaz/anafaz geçiş safhaları esnasında klastojenik etki sonucu kromozomlardan kopmuş olan fragmentlerin ya da anogenik hatalara bağlı olarak ana nükleusa dahil olamayan tam kromozomlardan oluşan ve hücre bölünmesi sonucunda sitoplazma içerisinde ana nükleus yanında gözlenen ikinci bir küçük nükleus yapısı mikronükleus olarak adlandırılmaktadır [64]. Özellikle balıklar üzerinde kullanılabilirliğinin uygun olması nedeni ile mikronükleus testi son yıllarda giderek artan oranda kullanılan bir test metodu haline gelmiştir. Balık eritrositleri çekirdekli olduklarından dolayı bu hücrelerin mikronükleus testinde kullanımı son derece kolaydır. Gerek *in situ* gerekse laboratuar koşullarında yapılan çalışmalarda genetiksik maddelere maruz kalan balıklarda mikronükleus frekanslarının anlamlı düzeyde arttığı gözlenmiştir [65].

Çalışmamızda sentetik piretroit grubu pestisitlerden biri olan Deltamethrin'in genetiksik etkisi uygulamasının kolay, sonuçlarının güvenilir olması nedeniyle, mikronükleus test yöntemi ile araştırıldı. Bu bağlamda 96 saatlik LC₅₀ değeri 0.85 mg/l olarak saptandı. LC₅₀ değeri doğrultusunda subletal doz belirlenerek Deltamethrin'in balık eritrositlerindeki nükleus değişiklikleri genetiksithe testlerinden biri olan mikronükleus testi ile tespit edildi. Kontrol ve canlı balık bulunan deney gruplarından 5 adet balıktan kan örnekleri kaudal vena'dan alınarak her kan örneğinden 5 adet preparat hazırlandı. Präparatlar havada kurutulduktan sonra 20 dakika süreyle Metanol'de fikse edildi. Präparatların tekrar havada kuruması sağlanarak, % 10'luk Giemsa-fosfat buffer solüsyonunda 15 dakika boyandı. Bu süre sonunda préparatlar solüsyondan çıkarılarak Fosfat buffer solüsyonu ile yıkanmış ve havada kurumaları sağlandı. Präparatlar ışık mikroskopunda x1000 lik büyütme ile incelenerek ve her préparatta 1000 eritrosit hücresi sayılara mikronükleuslu hücre sayısı tespit edildi. Präparattaki düzgün nükleuslu eritrositlerde ana nükleustan ayrı ve yuvarlak yapılı partiküller mikronükleus olarak değerlendirildi. Boya partikülleri ile MN'yi karıştırmamak için mikrovida ile kontrol yapıldı. Nükleusla MN nin birlikte kaybolup tekrar görülmesi bu ayrimı sağladı. Çalışma sonucunda elde edilen veriler istatiksel olarak değerlendirildi. Daha sonra préparatlar mikroskop altında

değerlendirmeye alındı. Her preparattan 1000 hücre sayılarak mikronükleus değerlendirmesi yapıldı.

3.9. Biyokimyasal Çalışmalar

Araştırmamızda biyokimyasal analizler için alınan karaciğer doku örneklerinden homojenatlar elde edildi. Bu homojenatlar santrifüj edilerek süpernatant kısmı ependorf tüplerine alındı. Ayrıca bu çalışmada yine Deltamethrin'in balıkların kan serumundaki Total antioksidan (TAS), Oksidan (TOS) düzeyleri üzerine etkisi de incelendi. Bunun için balıklardan kan örnekleri alındı ve serumları ayrıldı. Kan serumunda ve karaciğer dokusunda TAS ve TOS düzeylerinin analizi ticari kitlerin kullanıldığı metodlara göre spektrofotometrik olarak yapıldı [66, 67]. Bunlara ilave olarak elde edilen kan serumlarından ALT, AST, ALP, HDL, LDH, LDL, VLDL, TG, Kolesterol, Kreatin, Üre, Glikoz, Ca ve Glikoz düzeyleri Roche P 800 Autoanalyzer cihazıyla belirlendi.

3.10. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizleri istatistik paket (IBM SPSS version 21.0 for Windows) programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arasında anlamlı ilişki olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile belirlendi. İstatistiksel olarak farklılıkların hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için çoklu karşılaştırma (post hoc) testlerinden Tukey testi kullanıldı. Sonuçlar; ortalama \pm standart sapma ($X \pm SD$) olarak kaydedildi.

4. BULGULAR

Deltamethrin'in Havuz balıkları (*Carassius gibelio*) üzerindeki etkilerinin histopatolojik, genotosik, elektroforetik ve biyokimyasal yöntemlerle incelenmesi sonucu elde edilen bulgular Resim 5-19 ve Çizelge 1-4'de gösterildi.

4.1. Makroskopik Bulgular

Araştırma süresince kontrol ve farklı test konsantrasyonlarında hazırlanan Deltamethrinin deney gruplarındaki balıkların davranışları üzerine etkileri gözlendi ve kayıt edildi.

4.1.1. Balıklarda Görülen Davranış Değişiklikleri

Çalışmada kontrol grubundaki balıklarda 96 saatlik deney süresi boyunca normal davranışlar görülürken farklı derişimlerde Deltamethrin verilen deney gruplarındaki balıklarda yem alma isteği giderek azaldığı tespit edildi. Ayrıca deney süresince Deltamethrin'in *Carassius gibelio* bireylerindeki etkisiyle davranış değişikliklerine neden olduğu görüldü. Bu değişiklikler balıklarda önce hızlı hareket ettikleri daha sonraki zamanlarda bazı bireylerin daha yavaş hareket edip halsizleşikleri, kontrollsüz yüzme sergiledikleri, dururken aniden kıvrılıp yüzme ve su yüzeyinde yan yatar pozisyon aldıkları, yüzeyde toplanma, tankın dip kısmında yan yatarak yavaş hareket etme, ters ve yan yüzme, solunum güçlüğünden dolayı su yüzeyine doğru hızlı hareket etme şeklinde gözlandı. Ayrıca ölen balıkların ağızlarının açık, karın bölgelerinin kanamalı olduğu görüldü (Resim 4). Bununla beraber deri üzerinde, yüzgeç diplerinde ve solungaçta hiperemi, yüzgeç erimelerinin olduğu gözlandı. 96 saatin sonunda Deltamethrin bulunan test gruplarındaki tanklarda toplam 8 balığın öldüğü tespit edildi. Ölen balıklarda nekrotik odaklar, renk koyulaşması, gözlerde opaklaşma, yüzgeçlerde erimeler, yüzgeç tabanlarında ve operkularda hiperemi mevcuttu.



Resim 4. Deneyde Kullanılan *Carassius gibelio*, Havuz balığı (Orjinal).

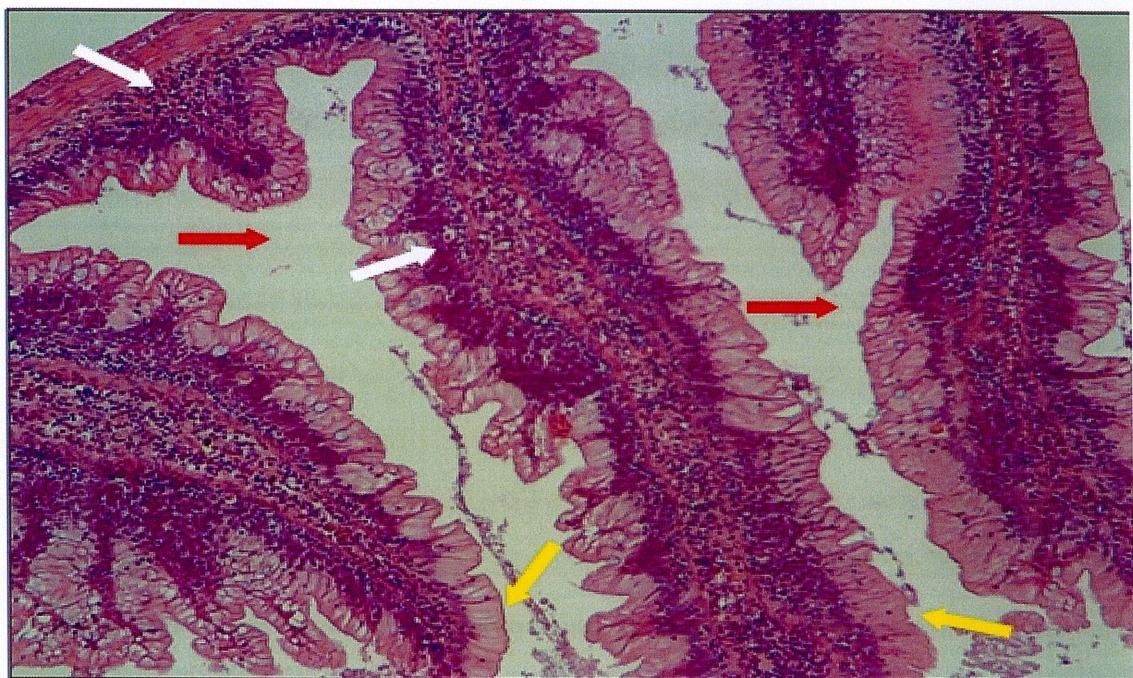
4.2. Mikroskopik Bulgular

Deltamethrin'in Havuz balıklarının (*Carassius gibelio*) bağırsak, karaciğer ve solungaç dokuları üzerindeki etkilerine ait mikroskopik bulgular Resim 5-19'da gösterildi.

4.2.1. Histopatolojik Bulgular

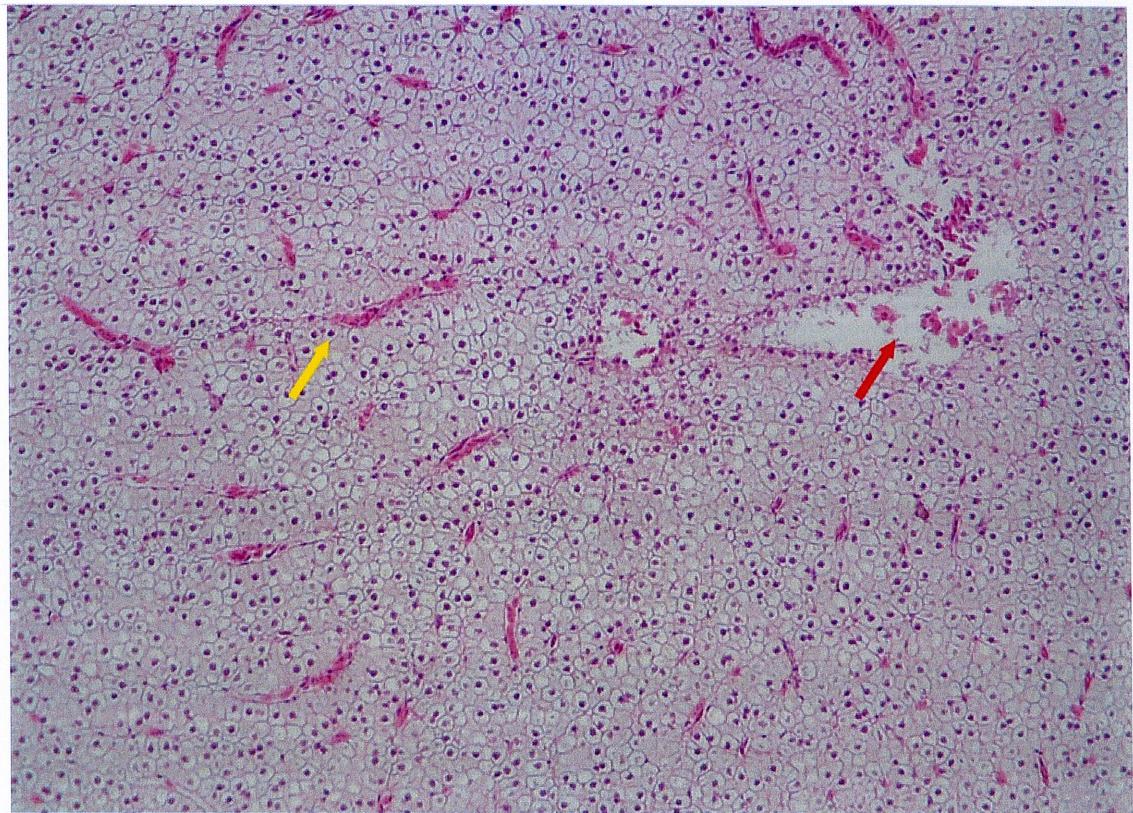
Kontrol grubundaki balıkların bağırsak, karaciğere ve solungaca ait dokuları normal görünümde tespit edildi (Resim 5, 6, 7).

Kontrol grubu bağırsak dokusundan alınan enine kesit düzlemindeki bu preparasyonda villusların arasında lümen (kırmızı ok), bağırsak mukozasının tek katlı prizmatik epitelî ve goblet hücreleri (sarı ok), altında submukoza tabakası (beyaz ok) net bir şekilde izleniyordu (Resim 5).



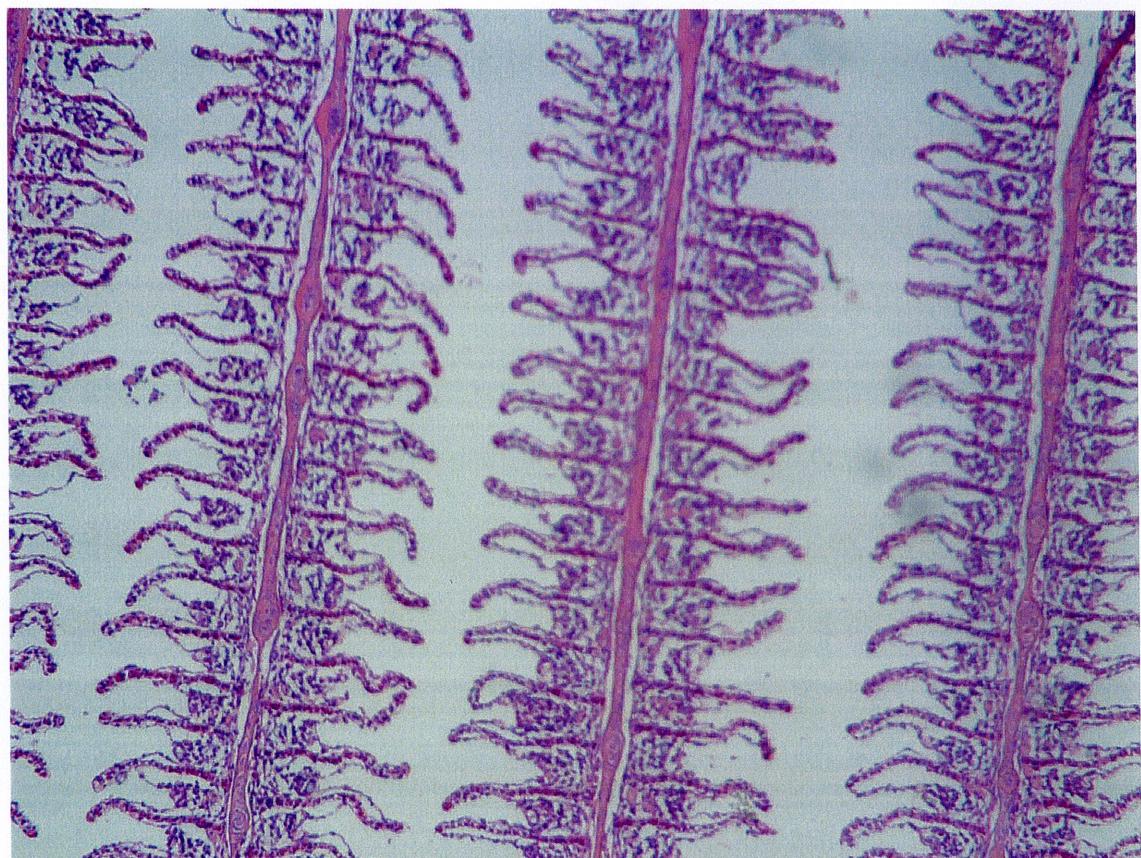
Resim 5. *Carassius gibelio*'nun kontrol grubu bağırsak dokusu (H-E, X10)

Karaciğer kontrol grubu dokusunda vena centralis (kırmızı ok) ve yer yer sinusoidlerin (sarı ok) içinde yerleşmiş eritrositler ve etrafında karaciğer hücreleri gayet güzel ayırt edilebilmektedir (Resim 6).



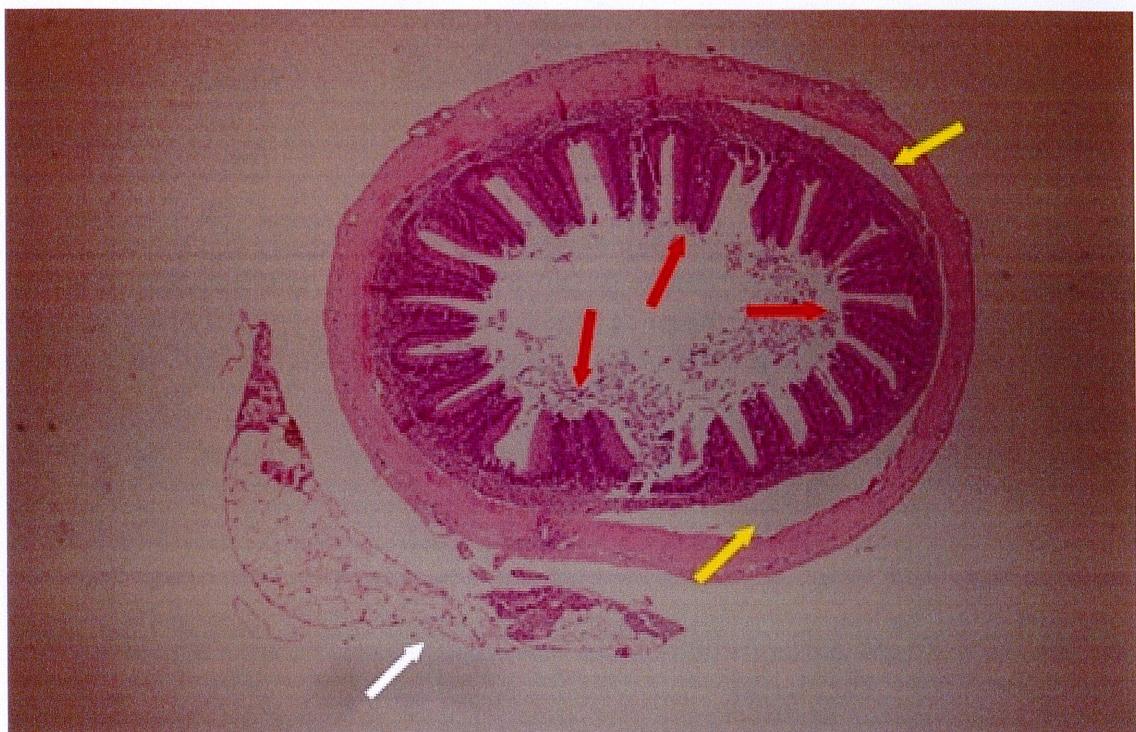
Resim 6. *Carassius gibelio*'nun kontrol grubu karaciğer dokusu (H-E. X10)

Kontrol grubuna ait preperasyonda solungacı oluşturan primer ve sekonder lameller ve hücreler net bir şekilde izlenmektedir (Resim 7).



Resim 7. *Carassius gibelio*'nun kontrol grubu solungaç dokusu (H-E. X10)

1.grupta bağırsaktan transvers geçmiş kesit düzleminde en önemli veri lümene doğru villusların üst kısımlarında dejenerere olan mukoza (kırmızı ok) izlenmekte, ayrıca mukoza tunika muskularis'deki yırtılma (sarı ok) açıkça görülmektedir. Tunika adventisy'a ait bağ doku ve yağ hücreleri (Beyaz ok) iyi bir şekilde izleniyordu (Resim 8).



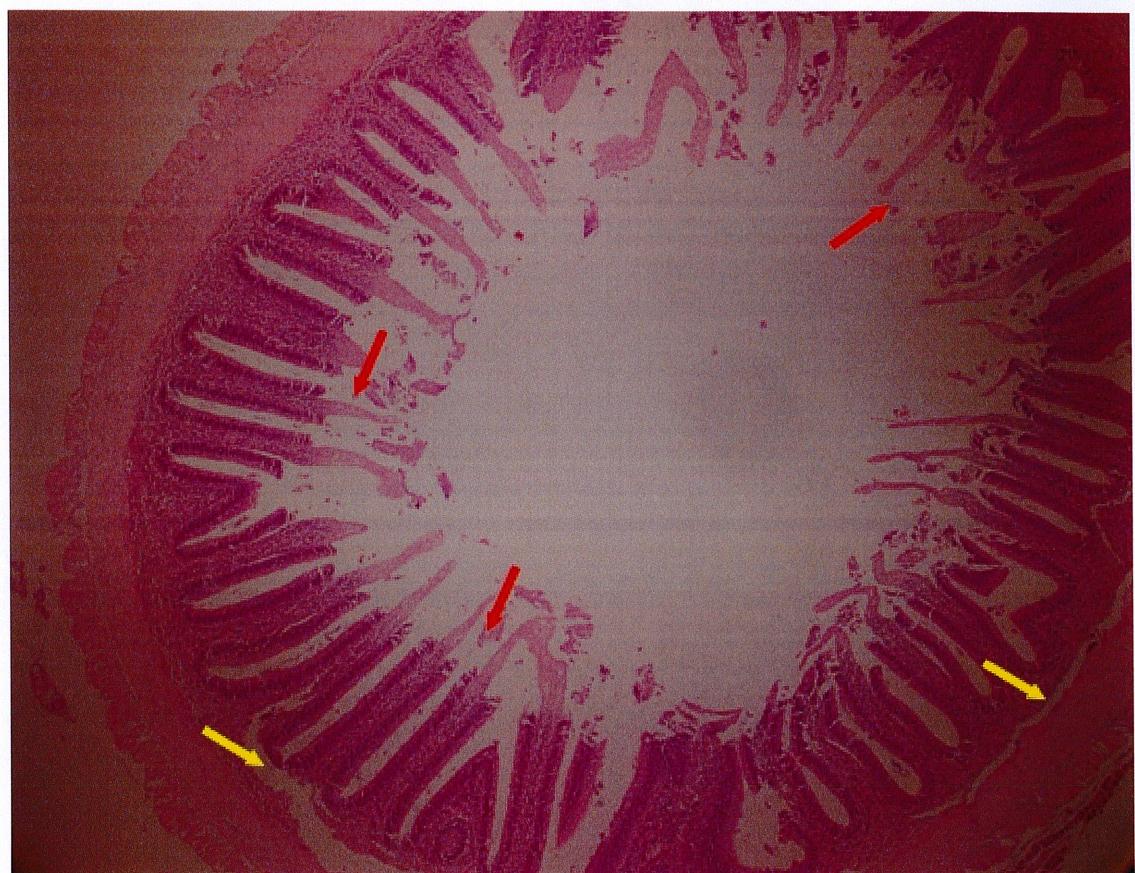
Resim 8. Deltamethrin uygulanan 1.grup 0.48 mg/l bağırsak dokusu (H-E. X10)

2.grupta bağırsaktan daha çok oblik geçen kesit düzleminde bazı kısımlarda bağırsak tunica mukozasında (kırmızı ok) dejenerasyonun arttığı izlenirken, ayrıca mukoza tunika muskaralis'deki yırtılma ve kopmalar (sarı ok) açıkça görülmektedir (Resim 9).



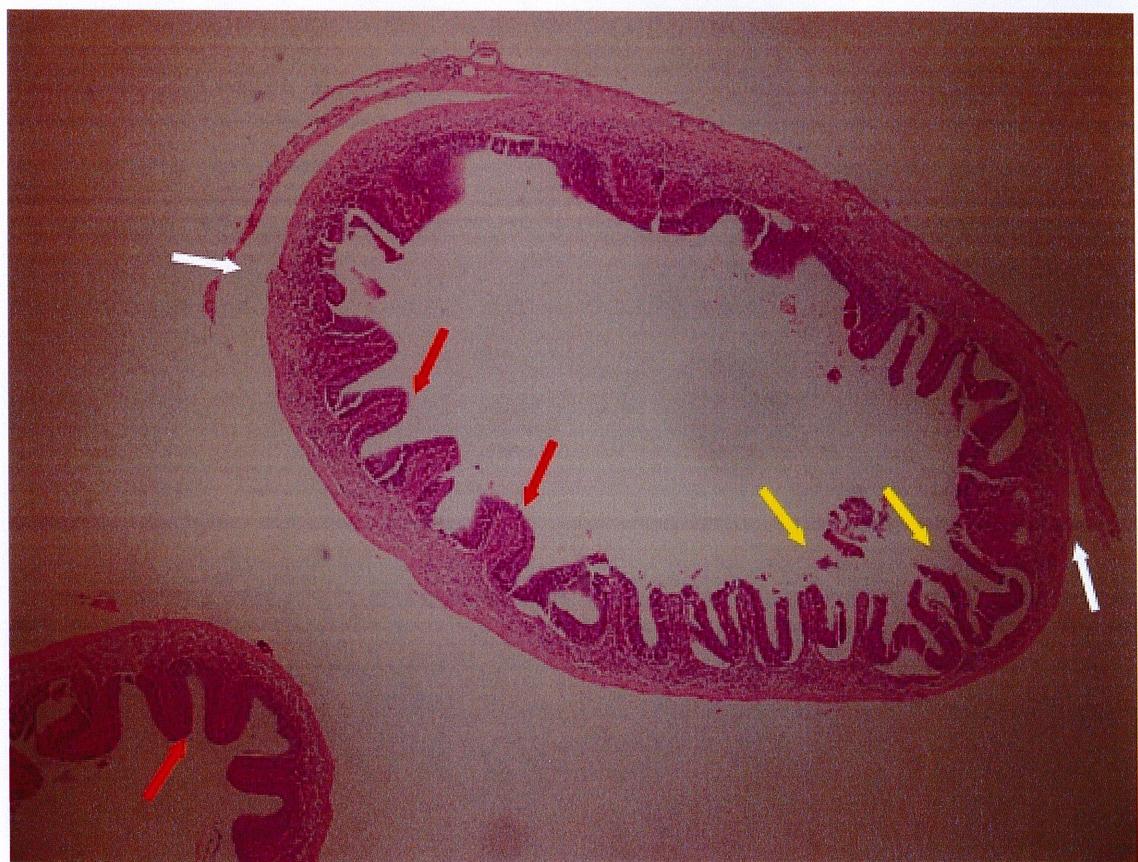
Resim 9. Deltamethrin uygulanan 2.grup 0.64 mg/l bağırsak dokusu (H-E. X10)

3 . gruba ait bağırsaktan enine geçmiş kesit düzleminde 1. ve 2. gruba göre daha fazla olarak villusların üst kısımlarında dejenerasyon mukozaya (kırmızı ok) ait tek katlı prizmatik epitelyum ve aralarındaki goblet hücrelerinin kayboluşu ve altındaki lamina propria'nın apikale doğru akışı net olarak izlenmektedir. Ayrıca tunika muskularis'deki yırtılmış ve yırtılmaya devam eden (sarı ok) alanlar açıkça görülmektedir (Resim 10).



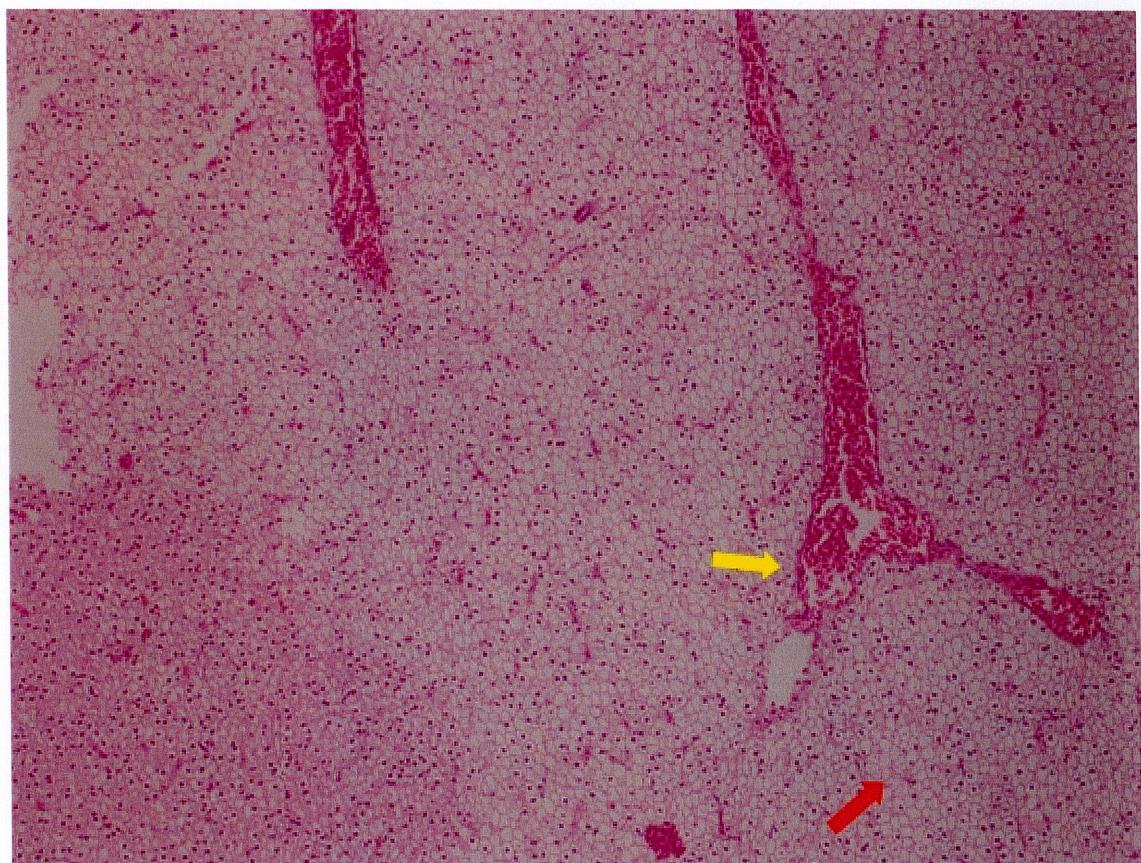
Resim 10. Deltamethrin uygulanan 3. grup 0.80 mg/l bağırsak dokusu (H-E. X10)

4 . gruba (en yüksek doz grubu) ait bağırsak kesitlerinde gözlenen en belirgin özellik villusların (kırmızı ok) ilginç bir şekilde kısalıp kalınlaşması olarak tanımlanabilir. Burada maddenin etkisinin asgariye düşürülmesi için villus yapısında adaptasyon olduğu izlenimi hakimdir. Yer yer villusların tahrip oluşuda (sarı ok) gözlenmektedir. Yine kas dokusu rejenerasyonu (beyaz ok) belirgin olarak izlenmektedir (Resim 11).



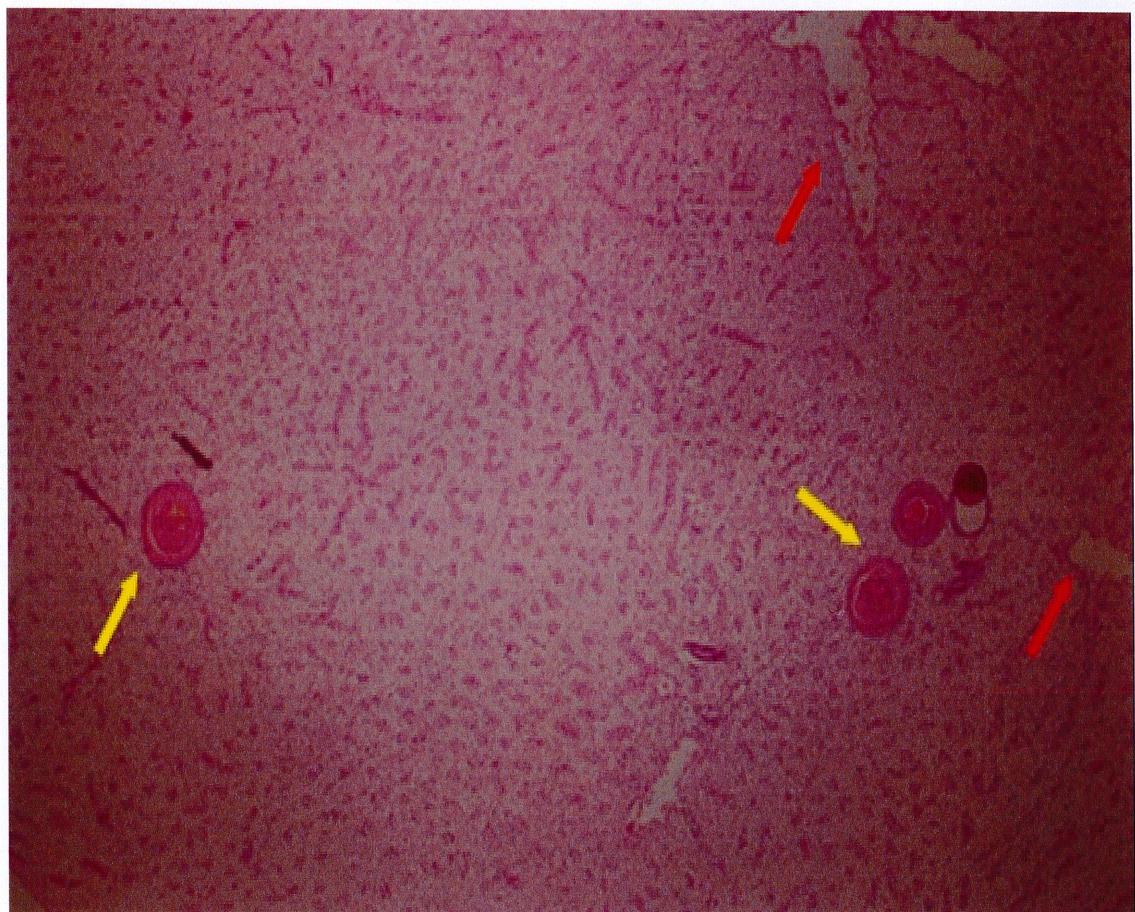
Resim 11. Deltamethrin uygulanan 4.grub 0.96 mg/l bağırsak dokusu (H-E. X10)

1. gruba ait karaciğer preparasyonlarında hepatositlerin yer yer sıkı sıkı bir araya geliştiğine yer yer ise dağınık olarak görünümleri dikkat çekmektedir. Yine hepatik hücrelerin sitoplazması (kırmızı ok) içi boş odacıklar halinde ve çekirdeklerinin yer yer gözlenemediği bir durum mevcuttur. Vena centralis (sarı ok) ve içindeki kan elemanları kolaylıkla izlenmektedir (Resim 12).



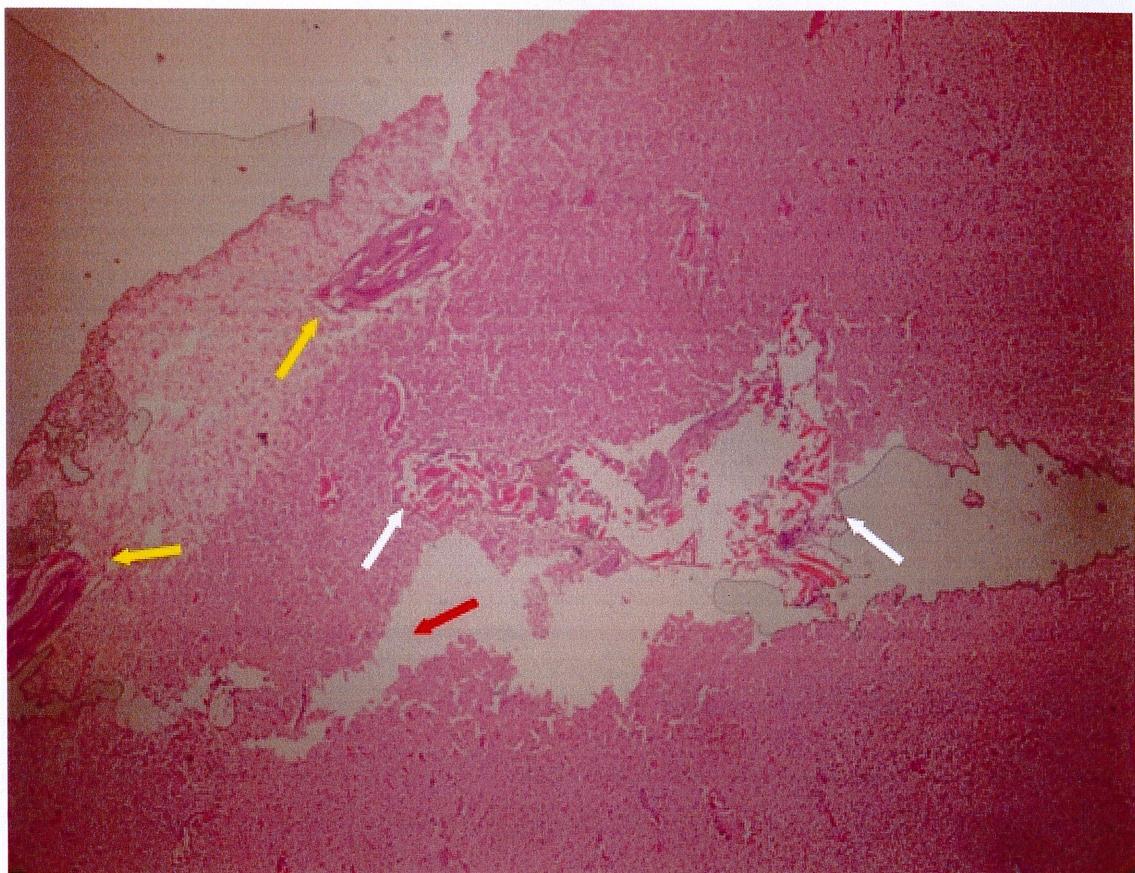
Resim 12. Deltamethrin uygulanan 1.grup 0.48 mg/l karaciğer dokusu (H-E. X10)

2. grupta doza bağlı olarak karaciğer dokusuna yerleşmiş kistik yapılar (sarı ok) en dikkat çekici veridir. Yine bu gruba ait karaciğer preparasyonlarında hepatik hücre kordonlarının ve hücrelerin akmaya başladığı gibi bir görüntü hakim vaziyettedir. Ayrıca dokuda vena centralislerin (kırmızı ok) düzensizlikleri, sinuzoidler ve etrafında çok fazla ayrıntı vermeyen hepatositler görülmektedir (Resim 13).



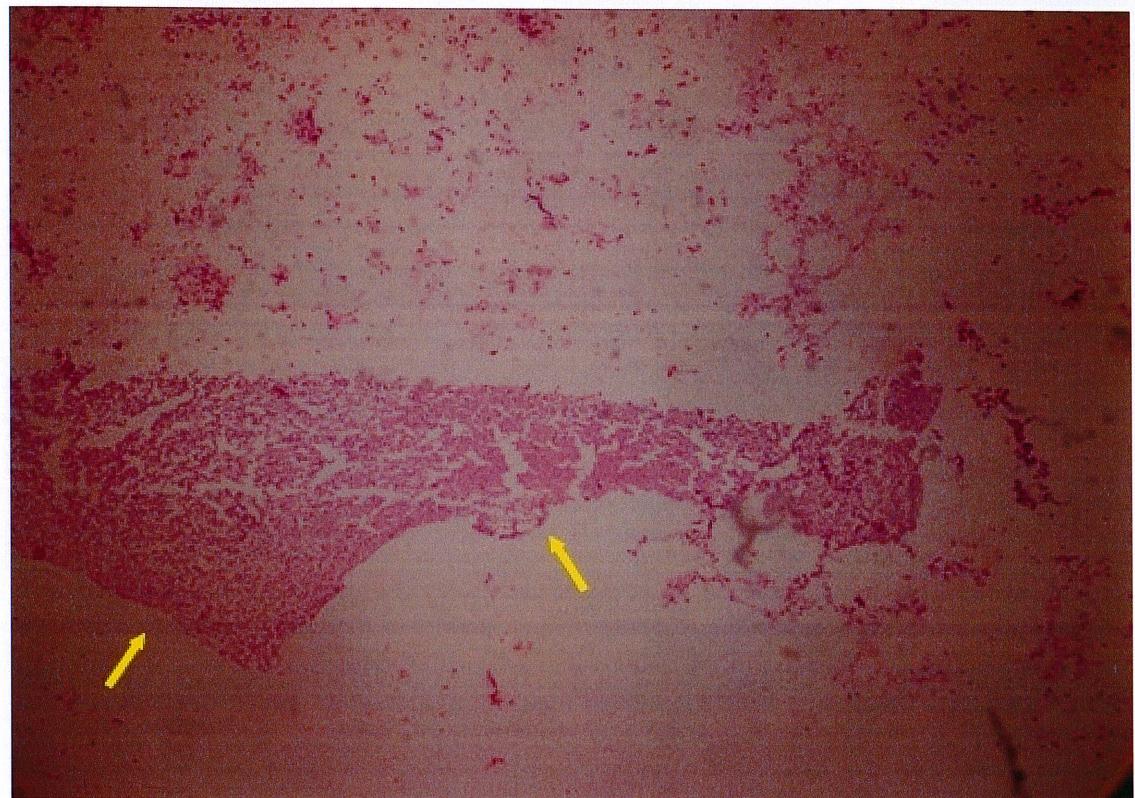
Resim 13. Deltamethrin uygulanan 2.grup 0.64 mg/l karaciğer dokusu (H-E. X10)

3. gruba ait preparasyonda karaciğerin yırtılıyormuş (kırmızı ok) gibi görüntüsüyle izlenirken, yer yer kanama odakları (beyaz oklar) ve kistik yapılar (sarı oklar) netlikle dikkat çekmektedir (Resim 14).



Resim 14 .Deltamethrin uygulanan 3.grup 0.80 mg/l karaciğer dokusu (H-E. X10)

4. gruba ait alınan kesitte karaciğer (sarı ok) diyebileceğimiz bir yapı tamamen tahrif olmuşken venlerin, hücrelerin, diğer elemanların birbirinden ayrılamadığı bir durum ilginç bir şekilde dikkat çekmektedir (Resim 15).



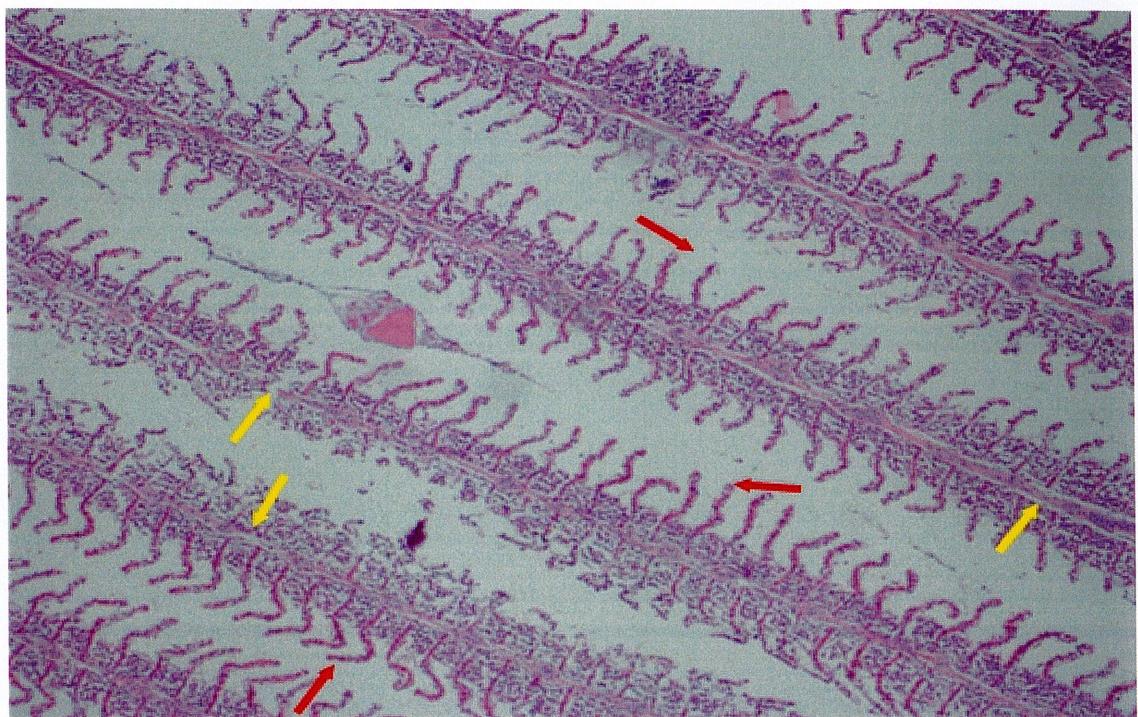
Resim 15. Deltamethrin uygulanan 4.grup 0.96 mg/l karaciğer dokusu (H-E. X10)

1. grupta solungacı oluşturan hyalin kıkırdak, bazı kısımlarda kıkırdağın perikondrium'u içerisinde yırtılıp kaybolmaya başlamış, bazı kısımlarda ise kıkırdak (sarı ok) tamamen dejener bir görünümdedir. Ayrıca primer ve sekonder epitellerde (kırmızı ok) yer yer bozulmalar, yırtılmalar ve nekrozlar başlamaktadır (Resim 16).



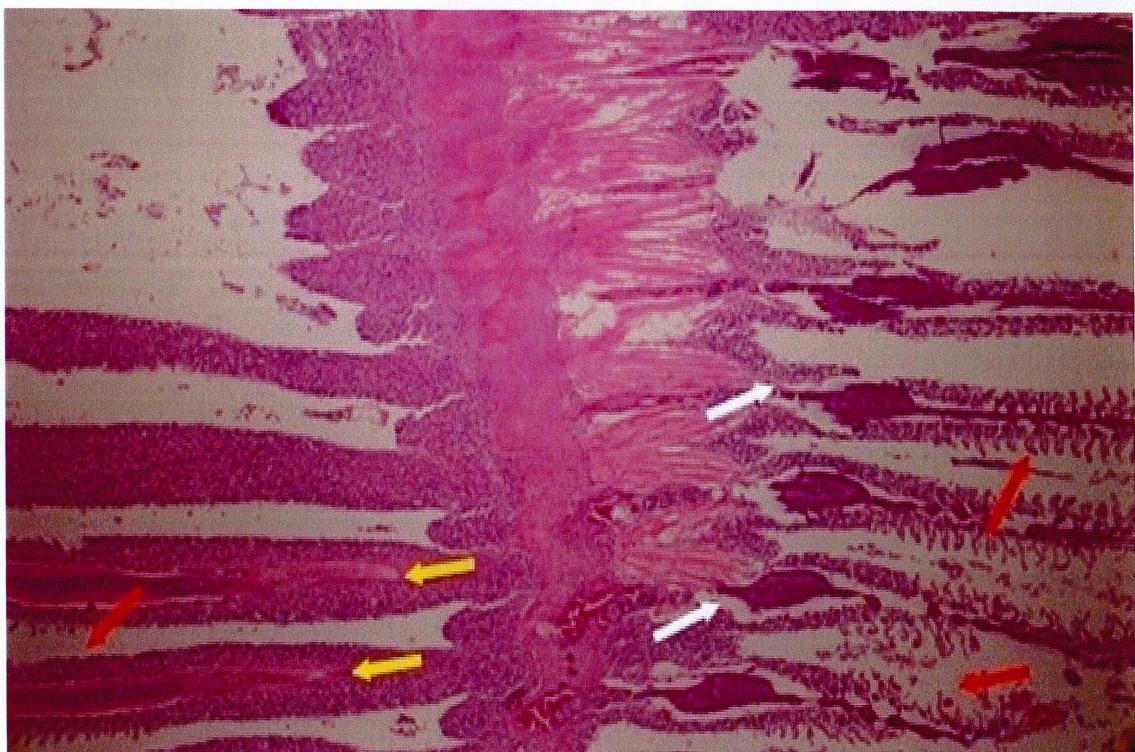
Resim 16. Deltamethrin uygulanan 1.grup 0.48 mg/l solungaç dokusu (H-E. X 10)

2. gruba ait bu prepasyonda hiyalin kıkırdak hücreleri (sarı ok) yoğun dejenerasyon göstermektedir. Ayrıca solungacı oluşturan yapılardaki bozulmalar dikkat çekerken, primer ve sekonder lamellere ait hücreler (kırmızı ok) diye adlandırabileceğimiz yapılar gözlenmektedir (Resim 17).



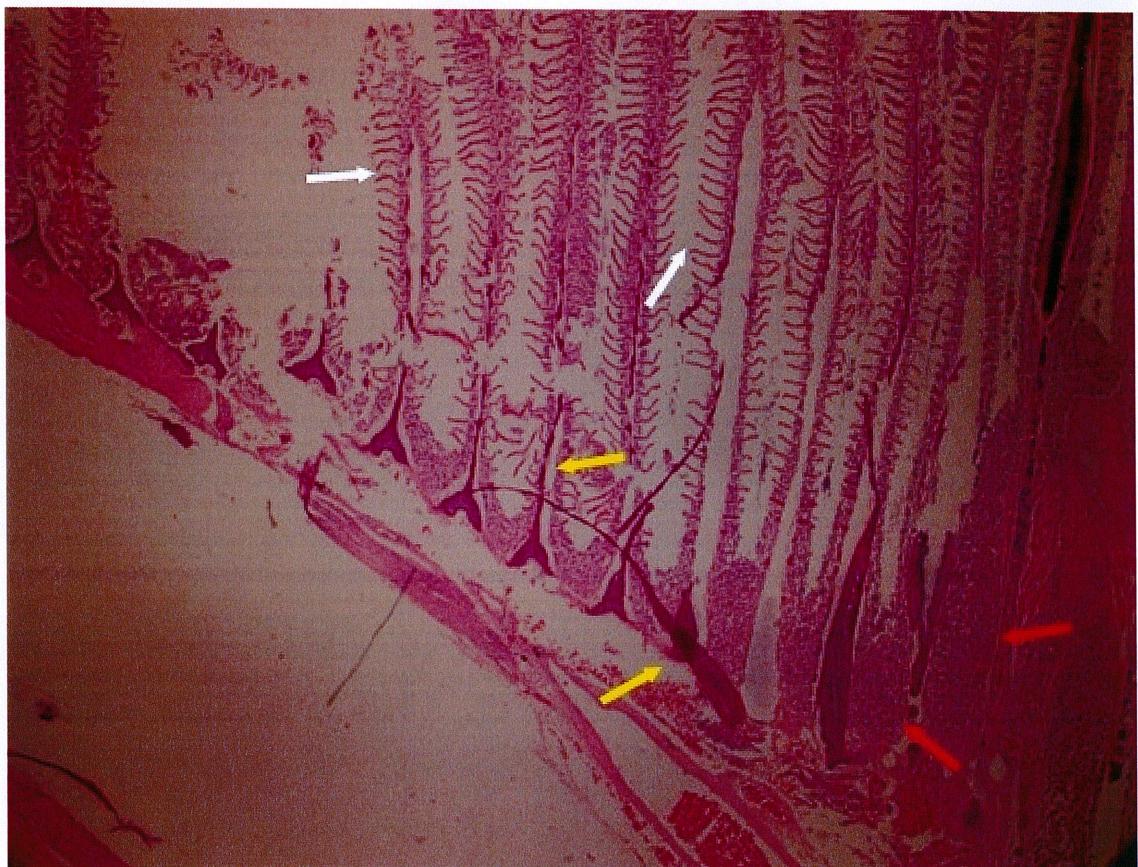
Resim 17. Deltamethrin uygulanan 2.grup 0.64 mg/l solungaç dokusu (H-E. X10)

3. grubun preparasyonlarında solungaça benzer bir yapının ortadan kalktığı, solungacı oluşturan primer ve sekonder epiteller (kırmızı ok) bozulmuş ve hyalin kıkırdağı oluşturan kondrositler erimiş gibi görünümde olması dikkat çekiciydi. Bazı kısımlarda kıkırdağın perikondriumu (sarı ok) içerisinde yırtılıp kaybolmaya başlamış, bazı kısımlarda ise kıkırdak tamamen dejenerere (beyaz ok) bir görünümdeydi (Resim 18).



Resim 18 . Deltamethrin uygulanan 3.grup 0.80 mg/l solungaç dokusu (H-E. X10)

Deneyde en yüksek dozu içeren 4. grup diğerlerine kıyasla bir çok alanda kan ve lenfositik (kırmızı ok) yapıların diffuz dağılımından ibaretti. Kıkırdak dokunun (sarı ok) tahrip oluşu net bir şekilde gözleniyordu. Genel olarak lameller yapılar kaybolmuş, solungaç lamellerini oluşturan epitele ait hücreler (beyaz ok) ise az çok seçilebilmektedir (Resim 19).



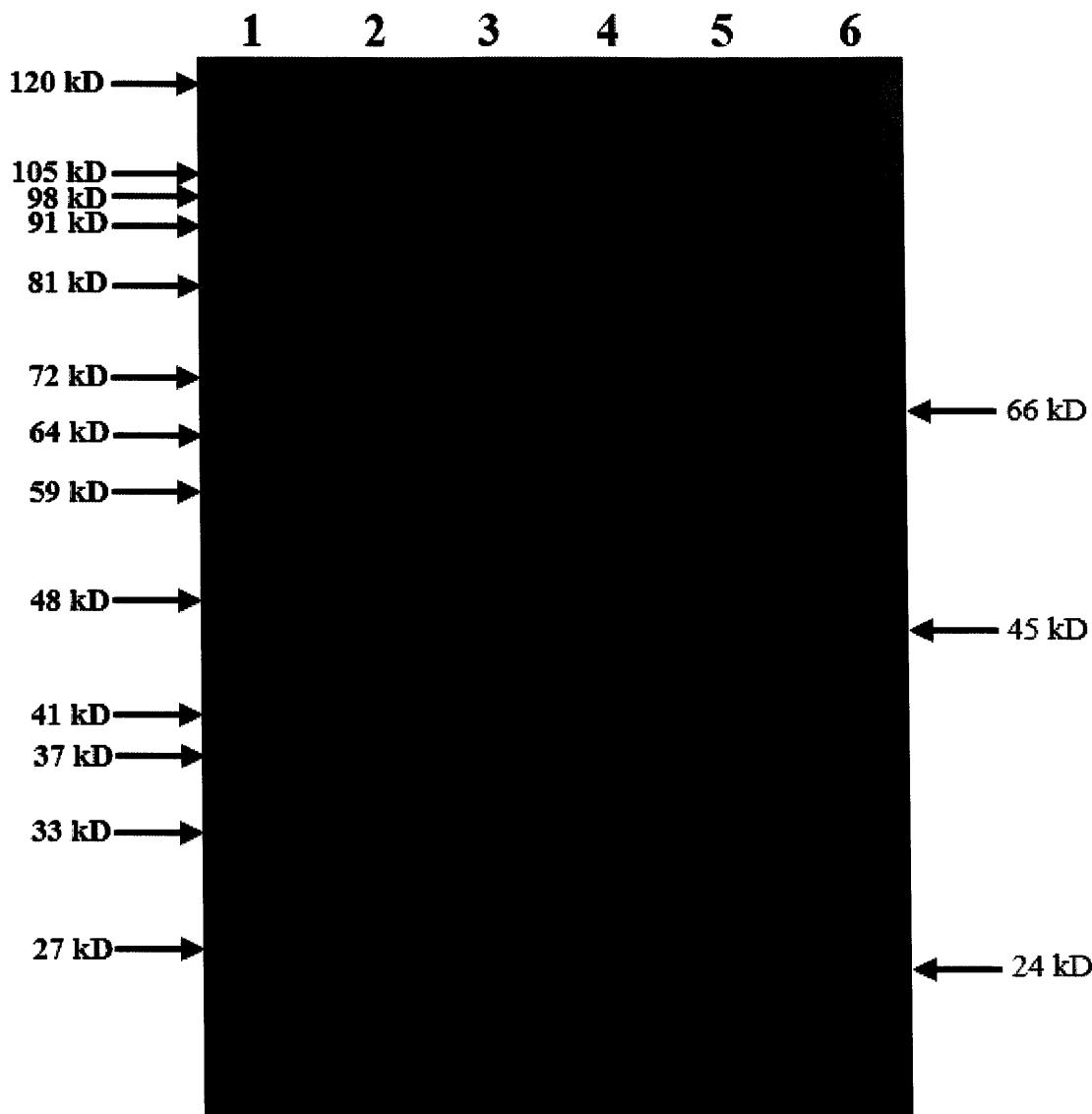
Resim 19. Deltamethrin uygulanan 4.grup 0.96 mg/l solungaç dokusu (H-E. X10)

4.2.2. Elektroforetik Bulgular

Kontrol ve Deltamethrin uygulanan deney gruplarındaki *Carassius gibelio*'lara ait SDS-PAGE'den ve elektroferogramdan elde edilen veriler kontrol grubuya kıyaslandığında deney gruplarındaki değişiklikler Çizelge 1 ve Şekil 20'de gösterilmiştir.

Çizelge 1. Elektroforetik Bulgular

Kontrol	1.Grup 0.48 mg/l	2.Grup 0.64 mg/l	3.Grup 0.80mg/l	4.Grup 0.96mg/l
120 kD	İncelme	İncelme	-	İncelme
105 kD	Kaybolma	Kaybolma	İncelme	Kalınlaşma
98 kD	-	-	-	-
91 kD	Kalınlaşma	-	Kalınlaşma	-
81 kD	İncelme	İncelme	İncelme	-
72 kD	-	-	-	-
64 kD	İncelme	-	İncelme	-
59 kD	İncelme	İncelme	İncelme	-
48 kD	-	-	-	Kalınlaşma
41 kD	-	-	-	Kalınlaşma
37 kD	İncelme	İncelme	İncelme	-
33 kD	-	-	-	-
27 kD	İncelme	İncelme	İncelme	Kalınlaşma



Resim 20. Deltamethrin uygulanan *Carassius gibelio*'nın SDS-PAGE yöntemiyle elde edilen serum proteinlerinin elektroferogramı.

- 1) Kontrol grubu 2) 1. Grup 0.48 mg/l 3) 2. Grup 0.64 mg/l
- 4) 3. Grup 0.80 mg/l 5) 4. Grup 0.96 mg/l 6) Standart proteinler.

Serum örneklerinin SDS-PAGE'den elde edilen elektroforegramında kontrol grubundaki balıkların protein bantlarına göre; 0.48 mg/l DM bulunan grupta 105 kD kaybolma ,91 kD, "luk protein bandında kalınlaşma, 120 kD ,81 kD, 64 kD ,59 kD ,37 kD ve 27 kD'luk protein bandlarında incelmeler, 98 kD, 72 kD ,48 kD, 41 kD ve 33 kD'luk protein bandlarının ise yeni sentezlendiği saptandı. 0.64 mg/l DM bulunan

grupta 105 kD'luk protein bandında kaybolma, 120 kD, 81 kD, 59 kD, 37 kD ve 27 kD'luk protein bandlarında incelmeler, 98 kD, 91 kD, 72 kD, 64 kD, 48 kD, 41 kD ve 33 kD'luk protein bandının ise yeni sentezlendiği saptandı. 0.80 mg/l DM bulunan grupta 91 kD'luk protein bandlarında kalınlaşma, 105 kD, 81 kD, 64 kD, 59 kD, 37 kD ve 27 kD'luk protein bandlarında incelmeler, yine aynı grupta 120 kD, 98 kD, 72 kD, 48 kD, 41 kD ve 33 kD'luk protein bandlarının ise yeniden sentezlendiği saptandı 0.96 mg/l DM bulunan grupta 82 kD, 76 kD ve 36 kD'luk protein bandlarında kalınlaşmalar, 105 kD, 48 kD, 41 kD ve 27 kD'luk protein bandlarında kalınlaşmalar, 120 kD'luk protein bandında incelme, yine aynı grupta 98 kD, 91 kD, 81 kD, 72 kD, 64 kD, 59 kD ve 37 kD'luk ve 33 kD'luk protein bandlarının ise yeniden sentezlendiği saptandı (Resim 20).

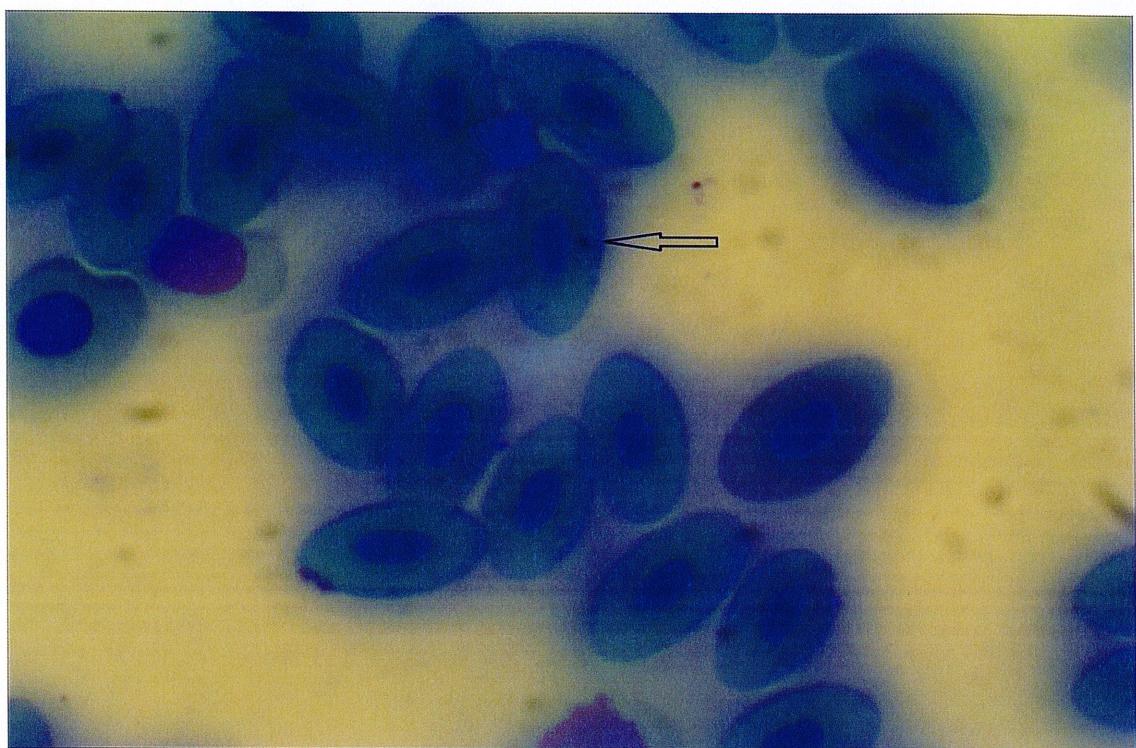
4.2.3. Genotoksik Bulgular

Çizelge 2'de Deltamethrin uygulanan beş adet *Carassius gibelio* bireyinde sayılan mikronükleusların ortalama değerleri gösterildi. Her preparattan 1000 eritrosit hücresi sayilarak mikronükleus ve morfolojik nükleus anormallikleri saptandı. Deney gruplarında mikronukleus sayıları arasındaki fark istatistik açıdan anlamlı bulundu ($p<0.00$). Deltamethrin'in *Carassius gibelio* bireylerinin eritrositlerinde oluşturduğu nükleus değişimleri ile genotoksik etkisi saptandı.

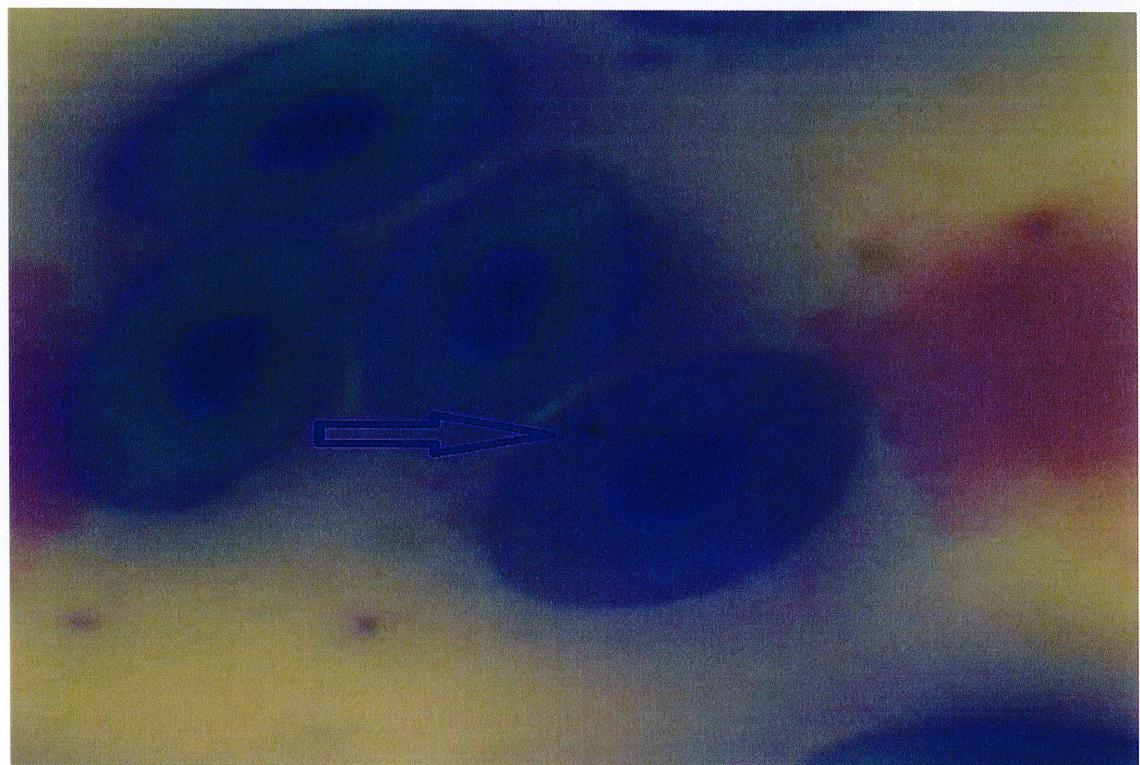
Çizelge 2. Deltamethrin uygulanan *Carassius gibelio*'nın ortalama mikronükleus sayıları.

Kontrol	1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup	P değeri
Grubu	0.48 mg/l	0.64 mg/l	0.80 mg/l	0.96 mg/l	
(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)	(n=5)	
6.80 ± 1.32^a	0.80 ± 0.84^c	1.60 ± 1.14^c	2.40 ± 0.55^{bc}	4.00 ± 1.87^b	0.00

Önemli ($p<0.05$), ** Çok önemli ($p<0.01$)



Resim 21. Deltamethrin uygulanan bir mikronukleuslu hücre.



Resim 22. Deltamethrin uygulanan bir başka mikronukleuslu hücre.

4.2.4. Biyokimyasal Bulgular

Deltamethrin'in *Carassius gibelio* üzerine uygulanmasıyla kan serumu ve karaciğer homojenatlarındaki TAS ve TOS düzeyleri Çizelge 3'de gösterildi. Bu balıkların kan serumunda ve karaciğer dokusu homojenatlarındaki total antioksidan (TAS) düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla Deltamethrin uygulanan gruplarda azalmasına karşın, total oksidan (TOS) bakımından artışlar olduğu saptandı. Karaciğer dokusu TAS ve TOS düzeyleri istastiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

Çizelge 3. Deney gruplarında ölçülen total antioksidan (TAS) ve total oksidan (TOS)'in ortalama düzeyleri

Kan Serumu				Karaciğer				
Gruplar (n=7)	TAS (mmol Trolox eq/L)	TOS (μmol H ₂ O ₂ eq/L)		TAS (mmol Trolox eq/L)	TOS (μmol H ₂ O ₂ eq/L)			
	Ortalama	Standart Hata	Ortalama	Standart Hata	Ortalama	Standart Hata	Ortalama	Standart Hata
Kontrol	,7521	,03033	4,3187	,21577	1,0698	,08752	7,2679	,33010
48 ml	,6272	,06690	4,6548	,32515	,9290	,08040	9,2897	,61449
64 ml	,6125	,05638	5,0005	,31984	,8985	,05403	9,8602	,63569
80 ml	,6343	,05650	5,4673	,24624	,7833	,07927	10,6483	1,12827
96 ml	,6189	,05041	5,4493	,42566	,7632	,06714	10,5373	,81432
P	<i>0,337</i>		<i>0,062</i>		<i>0,046</i>		<i>0,022</i>	

Önemli ($p<0,05$), ** Çok önemli ($p<0,01$).

Kanda glikoz, üre, keratin, Ca, kolesterol, TG, HDL, ALT, AST, ALP, LDH, LDL ve VLDL seviyelerine ait varyans analiz tablosu ve çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4'de verilmiştir. Bu çizelge görüldüğü gibi, *Carassius gibelio*'nın biyokimyasal analizi sonucunda serumdaki enzimlerin (ALT, AST, ALP, LDH, LDL, VLDL, HDL, TG) metabolitlerin (glukoz,コレsterol, üre, kreatin) ve kalsiyum iyonları (Ca^{++}) düzeylerinde kontrol ve yükselen doz artışına göre deney grupları karşılaştırıldığında önemli değişikliklerin olduğu belirlenmiştir. ALT, LDH, LDL, VLDL, HDL, TG, üre veコレsterol düzeyleri kontrol gruplarına göre düşerken kreatinde artış gözlenmiştir. İstatistik analiz sonucunda deney grubu örneklerinden elde edilen glukoz, Ca, AST, ALP düzeyleri arasında önemli bir fark bulunmazken ($p > 0.05$); ALT, LDH, LDL, VLDL, HDL, TG, üre, kreatin veコレsterol düzeylerinde istatistik açıdan önemli farklar bulunmaktadır ($p < 0.05$).

Çizelge 4 . Deney gruplarında biyokimyasal parametrelerin ortalama düzeyleri

Enzim Aktivitesi (U/L)	Kontrol Grubu (n=7)	1.Grup 0.48 mg/l (n=7)	2.Grup 0.64 mg/l (n=7)	3.Grup 0.80 mg/l (n=7)	4.Grup 0.96 mg/l (n=7)	P değeri
Glikoz	62.60 ± 14.98	79.60±21.51	64.00±22.84	54.71 ±22.55	75.33±23.35	0.195
Üre	3.00 ± 0.71 ^{a b}	2.80±0.79 ^{ab}	2.29±0.49 ^b	2.38±0.74 ^b	4.00±1.31 ^a	0.002
Kreatin	0.28 ± 0.10 ^b	0.20±0.07 ^b	0.21±0.04 ^b	0.29 ±0.08 ^b	0.59±0.18 ^a	0.000
Ca	10.39 ± 2.61	9.79±2.36	10.51±3.22	11.26 ±1.94	9.60±1.78	0.792
Kolesterol	444.89 ± 76.66 ^a	339.25±65.76 ^{ab}	346.71±80.44 ^{ab}	252.86 ±85.76 ^b	273.38±97.02 ^b	0.000
TG	107.00 ± 34.29	88.10±29.46	60.71±13.12	66.00 ±22.24	107.13±55.67	0.022
HDL	223.44 ± 25.41 ^a	180.40±46.17 ^{ab}	181.14±21.39 ^a	155.25 ±42.45 ^b	153.00±18.86 ^b	0.001
AST	2131.57 ± 685.58	2178.13±561.90	2369.00±604.20	2260.75 ±806.12	1809.50±944.07	0.794
ALT	449.50 ± 46.23 ^a	223.43±76.29 ^b	216.00±33.36 ^b	250.00 ±74.08 ^b	181.67±60.52 ^b	0.000
ALP	63.50 ± 17.93	63.13±18.18	63.00±12.48	54.33 ±14.05	66.20±13.59	0.752
LDH	2541.33 ± 882.13 ^a	1107.70±895.83 ^b	1081.57±391.87 ^b	1804.20 ±433.86 ^{ab}	1270.43±451.20 ^b	0.002
LDL	200.11 ± 62.16 ^a	149.80±95.70 ^{ab}	153.43±64.88 ^{ab}	63.80 ±11.61 ^b	80.67±20.26 ^{ab}	0.013
VLDL	21.33 ± 6.87 ^a	17.60±5.87 ^{ab}	12.14±2.54 ^b	13.38 ±4.53 ^{ab}	19.20±8.41 ^{ab}	0.018

Önemli (p<0.05), **Çok önemlidir (p<0.01). Aynı satırda farklı harfler istatistiksel farklılığı ifade etmektedir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Deltamethrin son derece toksik bir insektisit olduğu için balıkların ölümü bu kimyasal maddenin konsantrasyona, balığın maruz kalma periyoduna ve deney koşullarına bağlıdır. Bununla beraber balığın türü, cinsiyeti, metrik özellikleri ve o pestisite karşı duyarlılık düzeyi de balık ölümünü artırmakta veya azaltmaktadır. Balıklar maruz kaldıkları pestisitin toksik etkisinin derecesine, miktarına ve süreye göre davranış değişikliği göstermektedirler. Çalışmamızda 96 saatlik deney süresi boyunca Deltamethrin'in Havuz balıkları üzerine etkileri gözlandı ve rapor edildi.

Literatürde pestisitlerin balık türlerindeki toksik etkisi ile ilgili pek çok çalışma bulunmakta ve bu çalışmaların bazlarında incelenen pestisitin balığın davranışında oluşturduğu değişiklikleri de rapor etmektedir. Pestisitler, toksisitelerine göre balıkların farklı davranış değişiklikleri göstermesine neden olmaktadır. Bu davranışlar pestisitler için erken belirleyici biyoindikatörlerdir. Araştırmamızla ilgili çalışmalardan başlıcaları şunlardır:

Gündüz vd. (2012) Sazan balığı (*Cyprinus carpio*) üzerine Chlorpyriphos'un akut zehir etkisini göstermek için yapılan bir çalışmada bu pestisitin artan konsantrasyonlarının balıkların az hareketlilik, denge kaybı, düzensiz yüzme ve uzun süre hareketsiz kalma gibi davranış değişiklikleri gösterdiği rapor edilmiştir [68].

Viran vd. (2003) Deltamethrin'in *Poecilia reticulata* üzerine etkisi sonucu balıkların su üzerinde duramama, denge kaybı ve kuyruk üstüne düşme gibi davranış sergilediklerini tespit etmişlerdir [69].

Düzel (2013) *Pseudorasbora parva* üzerine Deltamethrin'in etkisi ile ilgili yaptığı çalışmada balıkların pestisitin etkisi ile önce hızlı hareket ettiklerini daha sonra yavaş hareket edip halsiz düştüklerini, kontrollsüz yüzdüklerini ve su yüzeyinde yan yattıklarını; ölüme yakın balıkların da akvaryumun dibinde yatar halde solungaçlarının

da hareketsiz olduklarını; ölmüş balıkların abdomen kısmının kanamalı, ağızlarının da açık olduğunu saptamıştır [70].

Çalışmamızda kontrol grubundaki balıklarda hiçbir davranış değişikliği gözlenmeyip, normal hareketler tespit edilmiştir. Havuz balıklarına Deltamethrin'in etkisi ile oluşan davranış değişiklikleri yukarıda literatür olarak verilen çalışmaların sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Bu çalışmada, Deltamethrin uygulanan Havuz balıklarının solungaç, karaciğer ve bağırsakları histopatolojik olarak incelendiğinde bu pestisitin en çok etkisinin solungaç, karaciğer ve bağırsak dokularında olduğu tespit edilmiştir.

Kan'ın (2011) yaptığı bir çalışmada Deltamethrin uygulanan balıkların solungaçlarında epitel hipertrofisi, lamel epitelinin ayrılması, mukus hücrelerinin hipertrofisi, sekonder lamellerde mukus birikimi, epitel hiperplazisi ve sekonder lamellerin kaynaşması gibi lezyonlar, pillar hücre kırılması, anevrizmaya, epitel hiperplazisi, sekonder lamellerin kaynaşması gibi lezyonlar gözlenmiştir. Karaciğer dokularında hiperstrofi, vakuoler dejenerasyon, yağ dejenerasyonu, piknotik nukleus, fokal nekroz, çift nukleuslu hücreler gibi değişiklikler tespit edilmiştir [26].

Çapkın ve Altınok (2005) yaptıkları çalışmada Endosülfan'ın Gökkuşağı alabalıkların solungaç, karaciğer, böbrek, dalak ve beyinlerinde meydana getirdiği etkileri belirlemek amacıyla yapılan histolojik incelemelerde Endosülfan'ın alabalıkların solungaç lamellerinde ödemlere, lamellerden epitelyumun ayrılmamasına, lamellerin birleşmesine ve epitelyum hücrelerde şişmelere neden olduğu tespit edilmiştir. Alabalıkların karaciğerinde yoğun bir şekilde ödem ve nekrozların olduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda nekrozların Alabalıkların böreklerindeki hematopoietik dokuda ve renal tübüllerde de olduğu tespit edilmiştir. Endosülfan'a maruz bırakılan alabalıkların doku yapılarında görülen bu değişiklerin hiçbir kontroll grubu balıklarda görülmemiğini rapor etmişlerdir [71].

Cengiz ve Ünlü (2006) Deltamethrin'in Sivrisinek balıklarının solungaç, karaciğer ve bağırsak lenfoid dokuları üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada solungaçlarda pitelid hipertrofi, dekuomasyon, nekroz, ödem, primer lamellar kapillerin genişlemesi, anevrizma, epitel hiperplazi ve lameller erime de olduğunu ve karaciğerde hepatosit hipertrofi, kupfer hücrelerinin artışı, dolaşım bozukluğu, sinusoidlerin daralması, nekroz ve yağ dejenerasyonu görüldüğünü ve bağırsakların lenfoid dokalarında mononukleer lökosit ve eosinofil infiltrasyonları ve nekroz saptamışlardır [33].

Cengiz (2006) Deltamethrine maruz bırakılan Sazan (*Cyprinus carpio*) balıklarının solungaç histopatolojisini incelemek üzere yaptığı çalışmada Deltamethrin'in solungaç dokalarında deskuomasyon, lamellerde bozulma, nekroz, ödem, anevrizma ve epitellerde dejenerasyon neden olduğu bildirilmiştir [72].

Yön vd. (2014) Deltamethrin'in Kılıçkuyruk (*Xiphophorus helleri*) balıklarının karaciğeri üzerindeki etkisinin incelenmesinde hepatositlerde hipertrofi ve dejenerasyon, piknotik nukleuslarla birlikte vakuolleşen hepatositler ve sinusoidlerde genişleme, hipertrofik hepatositler, dejenerere olmuş hepatositler, sinusoid dilatasyon ve karaciğer yağlanması saptanmıştır [73].

Çalışmamızda Deltamethrine maruz bırakılan Havuz balıklarının solungaç, karaciğer ve barsak dokularındaki etkilerini göstermek için yapılan histopatolojik araştırmalarda; solungaç, karaciğer ve bağırsak dokuları kontrol gruplarında histopatolojik yönden değişiklikler gözlenmemiştir. Deneyde Deltamethrin'in artan dozları Havuz balıklarının dejenerere bir görünümle primer ve sekonder epitellerde yer yer bozulmalara, yırtılmalar ve nekrozların başlamasına, hiyalin kıkırdak hücrelerinde yoğun dejenerasyona, solungaca benzer bir yapının ortadan kalkmasına, solungacı oluşturan primer ve sekonder epitellerin bozulmasına, hyalin kıkırdağı oluşturan kondrositlerin erimiş gibi görünmesine, kıkırdağın perikondriumu içerisinde yırtılıp kaybolmaya başlamasına, dejenerasyonun ileri aşamasında bir çok alanda kan ve lenfositik yapıların diffuz dağılımına, kıkırdak dokunun tahrip oluşunun net bir şekilde görülmesine, çoğunlukla lameller yapılarının kaybolmasına neden olduğu gözlenmiştir. Deltamethrin uygulanan karaciğer preparasyonlarında hepatositlerin yer yer sıkı sıkı bir araya gelişip yer ise

dağınık olarak görünümleri dikkat çekmektedir. Yine hepatik hücrelerin sitoplazması içi boş odacıklar halinde ve çekirdeklerinin yer yer gözlenemediği bir durum mevcuttur ve içindeki kan elemanları kolaylıkla izlenmektedir. Doza bağlı olarak karaciğer dokusuna yerleşmiş kistik yapılar görülmüştür. Ayrıca dokuda vena centralislerin düzensizlikleri, sinuzoidler ve hepatositler görülmektedir. Yer yer kanama odakları, kistik yapılar görülmektedir. En yüksek dozda karaciğerin tamamen tahrip olmuş hali dikkat çekmektedir. Deltamethrin uygulanan bağırsak dokusunda dejenerasyon artışı izlenirken, mukoza tunika muskularis'deki yırtılma ve kopmalar yine goblet hücrelerinin kayboluşu açıkça görülmektedir. En yüksek doz grubuna ait bağırsak kesitlerinde gözlenen en belirgin özellik villusların ilginç bir şekilde kısalıp kalınlaşması olarak tanımlanabilir. Yer yer villusların tahrip oluşu gözlenmektedir. Yine kas dokusu rejenerasyonu da belirgin olarak izlenmektedir. Deltamethrin'in Havuz balıklarının solungaç, karaciğer ve bağırsak dokularındaki etkilerinin histopatolojik yöntemle incelenmesi sonucunda elde edilen veriler literatür olarak verilen çalışmaların sonuçları ile bazı bakımlardan benzerlik ve farklılıklar olduğu görülmüştür.

Araştırmacılar, pestisitlerin sucul ekosistemde genotoksik etkilerini belirlemeye indikatör olarak eritrosit mikronukleus (MN) testini kullanmaktadır. Yaptığımız literatür araştırmasında pestisitlerin balıklar üzerindeki genotoksik etkilerinin test edildiği pek çok çalışma bulundu. Bu çalışmalardan;

Kan vd. (2012), Deltamethrine maruz bırakılan *Oreochromis niloticus*'un eritrositlerindeki mikronükleus frekansı ve solungaç, karaciğer dokusundaki histopatolojik değişimlerdeki E vitaminin rolünü araştırdıkları çalışmada E vitamininin uygulandığı grupta MN sıklığında azalma saptanmıştır. E vitaminin Deltamethrin uygulamalarında genotoksik ve histopatolojik etkileri azalttığı belirlenmiştir [26].

Yıldız (2005) Organofosforlu insektisitlerden biri olan Parathion methyl'ine maruz kalan *Barbus rajanorum mystaceus*'un eritrositlerinde en yüksek mikronükleus frekansının %2.65 olarak tespit edildiğini ve doz artışına bağlı olarak mikronükleuslu eritrosit sayısında artma olduğunu gözlemlemiştir [74].

Yine Yilayaz (2008) Chlorpyriphos ethylin'in *Capoeta trutta* bireylerinin eritrositlerinde mikronükleus oluşumuna etkisini araştırmıştır. En yüksek mikronükleus frekansı %2.19 ile 225 ppm'lik doza maruz bırakılan *C. trutta* bireylerinde tespit edilmiştir. Doz artışına bağlı olarak mikronükleuslu eritrosit sayısında artma olduğu belirtilmektedir [75].

Çavaş vd. (2003) piretroit grubu Lambda-cyhalothrinin subletal dozuna maruz kalan *Garra rufa*'nın mikronükleuslu eritrositlerinde önemli ölçüde artış gözlemlemişlerdir [76].

Crupkin vd. (2013) farklı konsantrasyonlarda (0.02, 0.5, 5 ve 10 mg/l) Mücevher çiklit balıklarına (*Australoheros facetus*) uygulanan endosülfan 5 mg/l doza maruz bırakılan grupta MN sıklığının yükseldiğini belirtmişlerdir [77].

Düzel (2013) yaptığı yüksek lisans tezinde tarımsal faaliyetler sonucu sucul ekosisteme toksik kırletici olarak bulunan sentetik piretroit grubu Deltamethrin'in Çizgili sazancıklar (*Pseudorasbora parva*) üzerindeki 96 saatlik genotoksik etkisinin belirlenmesinde eritrositlerdeki nükleus değişimlerini gözlemiştir; mikronükleus testi sonucunda kontrol grubunda ortalama MN frekansı %0.75 ve deney grubunda %11.1 olarak tespit etmiştir. Deltamethrine maruz bırakılan kontrol grubu ile deney gruplarının MN frekansları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. [78].

Ansari vd. (2009) *Channa punctata* eritrositlerinde Deltamethrin'in genotoksik etkisini inceledikleri çalışmada 72 saat sonunda eritrositlerde loblu, çentikli ve ikili nükleus tiplerine rastlamışlardır [79].

Köprücü ve Aydın'ın (2004) *Cyprinus carpio*'nun embriyo ve larvalarında Deltamethrin'in genotoksik etkisini araştırdıkları çalışmada 48 saatlik LC₅₀ değeri embriyo ve larvada sırasıyla 0.213 ve 0.074 µg/l tespit edilmiştir [27].

Farklı tür ve farklı toksik maddelerle yapılan çalışmalar sonucunda mikronükleus testlerine ilişkin bulgular ile çalışmamızda Deltamethrin maruziyeti sonucunda

Carassius gibelio 'da saptanan mikronükleus düzensizlikleri arasında benzerlikler olduğu anlaşılmıştır.

Sonuç olarak, Deltamethrin pestisiti *Carassius gibelio* üzerinde genotoksik etkiye sahiptir (Çizelge 2). Nukleus üzerinde genotoksik etki DNA üzerinde zincir kırıklığı şeklinde gözlenmiştir (Resim 21, 22).

Elektroforez elektriksel bir alanda farklı yük, büyüklük veya biçimde olan özellikle protein ve nükleik asit gibi makromoleküllerin ayrılması ve saflaştırılması için kullanılan bir tekniktir. Biyokimya ve Moleküler Biyoloji'de sıkılıkla kullanılan yöntemlerden biridir. Elektroforez serumda, dokuda, hemoglobinde ve idrarda patolojik durumlar sonucunda ortaya çıkan anormal proteinlerin varlığını, normal proteinlerin yokluğunu takip etmek için kullanılır. Besin hijyeni yönünden özellikle et ve mamüllerinin kalite denetiminde ve son yıllarda da sistematik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan bir tekniktir [80].

Yaptığımız literatür araştırmasında farklı tür ve dokularda elektroforetik yöntemle yapılan çalışmalardan;

Yılmaz vd. (2000) "Karakaya Baraj Gölü Bazı Balıklarının Kan Serum Proteinlerinin Elektroforetik Modelleri Üzerine Taksonomik Bir Çalışma"da proteinlerin türler arasında polimorfizm göstermesinden yararlanarak, SDS-PAGE yöntemi ile *Capoeta capoeta umbra* ve *Capoeta turutta*'ların kan serum proteinlerinin analizi ile bu iki türün akrabalık dereceleri incelenmiş; *Capoeta trutta* ve *Capoeta capoeta umbra*'ların kan serum proteinlerinin SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforez yöntemi ile incelenerek yapılan tür ve alttür çalışmasında *Capoeta trutta*'dan 16 serum protein bandı, *Capoeta capoeta umbra*'dan 11 serum protein bandı elde edilmiştir. Bu çalışmada, *Capoeta trutta*'ları 8 protein bandı, *Capoeta capoeta umbra*'nın protein bandlarından farklılık gösterdi. *Capoeta trutta* ve *Capoeta capoeta umbra*'nın SDS-PAGE yöntemiyle elde edilen farklı protein bantlarının moleküler ağırlıkları belirtilen sıraya göre kD cinsinden 135, 113.2, 96.8, 61.6, 52.5, 34.6, 12.5 ve 9.5'dir. Bunun yanı sıra 8 protein bandı bu iki balık arasımda benzerlik göstermiştir [81, 82].

Yılmaz ve Ayaz (2005) yaptıkları çalışmada Kars Çayı'ndan yakalanan *Carassius carassius*, *Capoeta capoeta capoeta* ve *Siluris glanis*'in Serum proteinleri Sodyum Dodesil Süfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezine uygulanmış ve farklı türler için benzerlik katsayıları (SC) hesaplanmıştır. Elde edilen elektroforegramlar, üç balığın serum proteinlerinin band sayıları ve moleküler ağırlıkları arasında benzerlikler ve farklılıkların olduğunu göstermiştir. SDS-PAGE'de *C. Capoeta capoeta* ve *Siluris glanis*'in serum protein bandlarının total sayısı 8 bulunmuştur. *Carassius carassius*'un serum protein bandlarının total sayısı 10'du. *Carassius carassius* ve *C. capoeta capoeta*'nın (SC:0.428) 3 serum protein bandının aynı moleküler ağırlıkta olduğu gözlenmiştir. Bunun yanı sıra, *Siluris glanis* ve *C. Capoeta capoeta*'nın (SC:0.142) 1 serum protein bandı aynı moleküler ağırlıkta bulunmuş; *Siluris glanis* ve *Carassius carassius* (SC:0) arasında benzerlik bulunamamıştır. Sonuç olarak, Cyprinidae familyasına ait *Carassius carassius* ve *Capoeta capoeta capoeta* arasındaki benzerlikler; Siluridae familyasına ait *Siluris glanis*'ten daha fazla bulunmuş ve bu balıkların serum proteinlerinin karşılaştırılmasının taksonomik sınıflandırma da pratik olacağı sonucuna varılmıştır [83].

Yine Yılmaz vd. (2008) yaptıkları bir çalışmada *Orthrias tigris*, *Orthrias angorae bureschii*, *Orthrias panthera* ve *Cobitis taenia*'nın sarkoplazmik Proteinleri Sodyum Dodesil Sülfat- Poliakrilamid Jel Elektroforezine (SDS-PAGE) uyguladıklarını, morfolojik olarak birbirine çok benzeyen *Orthrias tigris*, *Orthrias angorae bureschii*, *Orthrias panthera* ve *Cobitis taenia*'ların sarkoplazmik protein bandları yönünden elektroforetik olarak benzerlikleri ve farklılıklarını ortaya çıkardıklarını ve elde edilen sonuçlara göre, *Orthrias tigris*, *Orthrias angorae bureschii*, *Orthrias panthera* ve *Cobitis taenia*'ların morfolojik özelliklerinden yaralanılarak yapılan taksonomik çalışmaların doğru olduğunu bildirmiştir [84].

Karademir vd. (2015) "Bakır (II) sülfat Toksikasyonunun Fare (*Mus musculus*) Karaciğer Histopatolojisi, Karaciğer Protein Elektroforezi ve Plazma Biyokimyası Üzerine Etkisi" adlı çalışmada Bakır (II) sülfat toksikasyonunun ergin fare karaciğer morfolojisi, karaciğer protein elektroforezi ve plazma biyokimyasal bulguları üzerine

etkileri araştırılmıştır. Karaciğer protein elektroforezinde kontrol grubuna kıyasla 2 mg/kg Bakır sülfat grubunda protein bantlarında incelme, 6 mg/kg CuSO₄ grubunda protein bantlarında ise kalınlaşma gözlemlendiği rapor edilmiştir [85].

Kırıcı vd. (2015) yaptıkları bir çalışmada Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi ile SDS-PAGE yapılmış ve enzimin tek bant olduğu görülmüştür. Çalışma sonucunda İmidacloprid ve Lambda-cyhalothrin pestisitlerinin *in vitro* olarak G6PD enzimini etkili bir şekilde inhibe ettiği belirlenmiştir [1].

Serum örneklerinin SDS-PAGE'den elde edilen elektroforegramında (Resim, 20) kontrol grubundaki balıkların protein bantlarına göre; 0.48 mg/l DM bulunan grupta 105 kD kaybolma, 91 kD, "luk protein bandında kalınlaşma, 120 kD, 81 kD, 64 kD, 59 kD, 37 kD ve 27 kD'luk protein bandlarında incelmeler, 98 kD, 72 kD, 48 kD, 41 kD ve 33 kD'luk protein bandlarının ise yeni sentezlendiği saptandı. 0.64 mg/l DM bulunan grupta 105 kD'luk protein bandında kaybolma, 120 kD, 81 kD, 59 kD, 37 kD ve 27 kD'luk protein bandlarında incelmeler, 98 kD, 91 kD, 72 kD, 64 kD, 48 kD, 41 kD ve 33 kD'luk protein bandının ise yeni sentezlendiği saptandı. 0.80 mg/l DM bulunan grupta 91 kD'luk protein bandlarında kalınlaşma, 105 kD, 81 kD, 64 kD, 59 kD, 37 kD ve 27 kD'luk protein bandlarında incelmeler, yine aynı grupta 120 kD, 98 kD, 72 kD, 48 kD, 41 kD ve 33 kD'luk protein bandlarının ise yeniden sentezlendiği saptandı. 0.96 mg/l DM bulunan grupta 82 kD, 76 kD ve 36 kD'luk protein bandlarında kalınlaşmalar, 105 kD, 48 kD, 41 kD ve 27 kD'luk protein bandlarında kalınlaşmalar, 120 kD'luk protein bandında incelme, yine aynı grupta 98 kD, 91 kD, 81 kD, 72 kD, 64 kD, 59 kD ve 37 kD'luk ve 33 kD'luk protein bandlarının ise yeniden sentezlendiği saptandı. SDS-PAGE'den elde edilen elektroforegramda deney gruplarında kontrol grubuna göre bazı serum protein bandlarında kalınlaşmalar, incelmeler olduğu bununla beraber protein bantlarında sentezlenmeler de görüldü (Çizelge 1). Bu bulgular ışığında proteinlerin ekspresyonlarında artışlar gözlandı.

Zararlı canlıları ortadan kaldırmak için üretilmiş olan pestisitlerin, çeşitli alanlarda bilinçsizce yaygın ve yoğun kullanımı çevreye ve tüm canlılara da büyük zarar vermektedir. Bu kimyasallar, özellikle Dünya'nın yaridan fazlasını oluşturan, yaşam

için gerekli olan suyu ve insan gıdasını oluşturan balıkları da olumsuz yönde etkilemektedirler. Balıklar, pestisitlere karşı duyarlı olmaları nedeniyle balık Biyokimyası özellikle kan parametreleri, suyun kalitesini ve balığın sağlık durumunu yansıtan etmenlerdir. Kan parametrelerindeki değişiklikler doku ve organ hasarlarını, hastalık durumlarını göstermektedir. Örneğin ALT, AST, ALP ve LDH gibi bazı enzimler suda pestisitlerin takibinde ve balıklar üzerinde bu kimyasalların neden olduğu etkilerin tespitinde kullanılmaktadır. Bu enzimlerin kirleticilerin özellikle pestisitlerin etkisindeki balıklarda neden oldukları değişikliklerin biyoindikatörü olarak işlev gördüğü düşünülmektedir [86, 87].

Yapılan çalışmada, *Carassius gibelio*'nın biyokimyasal analiz sonucunda serumdaki enzimlerin (ALT, AST, ALP, LDH, LDL, VLDL, HDL, TG), metabolitlerin (glikoz, kolesterol, üre, kreatin) ve kalsiyum iyonları (Ca^{+2}) düzeylerinde kontrol ve artan doz artışına göre deney grupları karşılaştırıldığında önemli değişimlerin olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4). ALT, LDH, LDL, VLDL, HDL, TG, üre ve kolesterol düzeyleri kontrol gruplarına göre düşerken kreatin de artış gözlenmiştir. İstatistiksel analiz sonucunda deney grubu örneklerinden elde edilen glikoz, Ca^{+2} , AST, ALP düzeyleri arasında önemli bir fark bulunmadığı halde ($p > 0.05$) ALT, LDH, LDL, VLDL, HDL, TG, üre kreatin ve kolesterol düzeyleri arasında önemli farklar bulunmuştur ($p < 0.05$).

ALT ve AST normal koşullarda kanda düşük derişimlerde bulunurken, karaciğer dokusunun zarar görmesi durumunda serumdaki derişimleri artış göstermektedir.

Nemcsok vd. (1988); Pappas (1989) sağlıklı hücrelerin sağlam ve fonksiyonlarını yerine getiren zarlarından dolayı hücre içi enzimlerin dışarı çıkışının normal koşullarda çok olası olmadığını vurgulamaktadırlar. Bu nedenle kandaki ALT ve AST enzimlerinin yüksek düzeylerinin, hücre hasarına bağlı olarak kan plazmasına bu enzimlerin geçmesiyle olduğu öngörlülmektedir. Balıkların plazmasında bu enzimlerin aktivitelerindeki artışların başta karaciğer olmak üzere diğer organların (böbrek ve/ya da solungaç) zarar görmesi sonucu olduğu belirtilmektedir [88, 89].

Bucher vd. (1990) tarafından yapılan laboratuvar çalışmalarında da çeşitli toksik maddelerin etkisindeki balıklarda bu enzimlerin aktivitesinde önemli artışlar saptanmıştır. ALT ve AST aktivitesindeki bir artış evsel atıksulara maruz bırakılan *Salmo trutta*'nın serumunda gözlenmiştir [90].

ALP enziminin en önemli kaynakları böbrek ve karaciğerler olup kan dokusundaki artışları bu organlardaki hasarları göstermektedir [44]. Ağır metaller ve pestisitleri içeren kirletici maddelerin etkisinde yürütülen çalışmalarda çeşitli balık türlerinin kan dokularındaki biyokimyasal parameterlerde önemli azalış yada artışların meydana geldiği belirlenmiştir [91, 92].

Çalışmamızda *Carassius gibelio*'nun kan serumunda ve karaciğer dokusu örneklerinde serum total antioksidan (TAS) düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla Deltamethrin uygulanan grplarda azalırken oksidan (TOS) bakımından artışlar olduğu saptandı (Çizelge 3).

Sonuç olarak, Deltamethrin uygulamalarının *Carassius gibelio*'nun serum TAS ve TOS düzeyleri üzerinde önemli değişiklikler meydana getirdiği tespit edildi.

Li vd. (2011) yaptıkları bir çalışmada, bir fungusit olarak kullanılan Tebukonazol'ün *Cyprinus carpio*'da serum Total Antioksidan (TAS) Oksidan (TOS) ve Sialik Asit (TSA) düzeyleri üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmış; TAS, TOS ve TSA düzeyleri analiz edilmiş ve serum TAS düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla Tebukonazol uygulanan grplarda azalırken, TOS ve TSA bakımından artışlar olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, Tebukonazol uygulamalarının *Cyprinus carpio*'nun serum TAS, TOS ve TSA düzeyleri üzerinde önemli değişiklikler meydana getirdiği tespit edilmiştir. LDH tetramerik bir enzim olup bir kimyasalın toksisitesinin değerlendirilmesi için potansiyel bir markır olarak tanımlanmaktadır [93].

Wang vd. (1988); Velisek vd. (2006) plazma LDH aktivitesinin karaciğerdeki hücre ölümlerinin sonucunda kana enzimin geçmesiyle yükseldiği belirtilmektedir [6, 94].

Burtis vd. (1996) LDH aktivitesindeki artışın, hemoliz ve karaciğer hasarıyla ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bir sentetik piretroit insektisit olan cypermethrinin *Rhamdia quelen* (Borges vd. 2007) ve *L. rohita* türü balıklarda serum ALP ve LDH aktivitelerini artırdığı, trigliseritte düşüş olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen TG'in düşüş göstermesi bizim verilerle benzerlik göstermektedir. Başka bir piretroit olan Deltamethrin 28 günlük etkisinde ise *O. niloticus*'un serum ALP aktivitesi artmıştır (El-Sayed ve Saad 2008). Başka bir çalışmada da Ag, Cd, Cr, Cu ve Zn gibi çeşitli metallere maruz kalan *O. niloticus*'ta serum ALP ve LDH düzeylerinde önemli değişiklikler belirlenmiştir [95, 96, 97].

Kolesterolde yapılan birçok araştırmalarda da çeşitli toksik maddelerin etkisinde balıkların serum/plazma kolesterol düzeylerinde azalışlar rapor edilmiştir.

Agrahari vd. (2007) Monocrotophos türü pestisit etkisinde *Channa punctatus*'ta gözlemlenen hipokolesterolemiyi, pestisitin esterleşmiş kolesterolün serbest kolesterol dönüşmesini inhibe edici etkisine bağlı olarak açıklamışlardır [98]. Bu çalışmaya kolesterol değerlerimiz benzerlik göstermektedir (Çizelge 4).

Mehra vd. (2014) yapmış oldukları çalışmada ise kolesterol seviyesinin artmış olduğunu bildirmiştir. Bizim çalışmamızda kan serumunda kolesterol seviyesinde azalma olduğunu ve anlamlı farklılıklar gözlenmiştir ($p<0.05$) [99]. Bu çalışmaya elde edilen verilerle bizim çalışmamız benzerlik göstermemektedir (Çizelge 4).

Canlı organizmalarda iyonlar, enzimatik reaksiyonlarda kofaktör olarak görev alırlar ve asit-baz dengesini sağlarlar.

Croke ve McDonald (2002) balıklardaki iyon regülasyon mekanizmasının tüm çevre kirleticilerine karşı çok duyarlı olduğunu ve kirleticilerin solungaçların iyon işlevlerini bozmasıyla ilk toksik etkilerini gösterdiklerini bildirmiştir [100].

Mayer vd. (1992) Ca ve diğer iyonların, su alınımı ve iyon atılımının aktif düzenlenmesi ve normal doku işlevlerinin sürdürülebilmesi için uygun iyonik denge

gibi birçok fizyolojik işlevlerde önemli rolleri bulunmakta ve düzeyleri kirleticilere yanıtta sıklıkla değişmektedir [101].

Saha vd. (2009) yapmış olduğu çalışmada tatlı su balığı olan *Heteropneustes fossilis* üzerine Cypermethrin uygulamasıyla bir kontrol ve Cypermethrin'in iki subletal konsantrasyonu ($0,3$ ve $0,5 \mu\text{g/l}$) test edilmiştir. 4 saat Cypermethrin uygulaması sonrasında kan serumunda glikoz seviyesindeki artış olduğunu bildirmiştirlerdir. Bizim çalışmamızda da Deltamethrin uygulaması sonrasında kan serumunda glikoz seviyesinde gruplar arasında farklılıklar gözlenmemiştir [102]. Bu çalışmada elde edilen veriler çalışmamızdaki bulgularla (Çizelge 4) benzerlik göstermemektedir.

Atamanalp vd. (2002) Cypermethrin'in Gökkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) ile yaptıkları çalışmada kreatin değerlerinde gruplar arasındaki ve gruplarla kontrol arasındaki farkların önemsiz olduğu saptamışlardır. Bizim çalışmamızda (Çizelge 4) ise kreatin değerlerinde gruplar arasında ve gruplarla kontrol arasındaki farkların önemli olduğu sonucuna varılmıştır.Bu bulgu çalışmamızın sonucundan farklıdır. Aynı çalışmada kontrol grubunun en yüksek kolesterol değeri ($258,666 \pm 34,79 \text{ mg/dl}$) verirken doz artışı ile birlikte deney gruplarındaki değerler düşmektedir. Üstelik bu azalma doz artışı ile ters orantılı olarak sıralı bir şekilde ortaya çıkmıştır [103]. Pestisite maruz bırakılan grplardaki balıkların kanlarında kolesterol değerinin düşmesi çalışmalarla (Çizelge 4) paralellik göstermiştir.

Kumar (2014) DDVP insektisitin etkisini araştırmak üzere yapmış olduğu bir çalışmada uygulanan *Channa punctatus*'un serumunda LDL, HDL, TG, VLDL, ALP değerlerinde artışlar gözlenirken cholesteroldede düşüşler gözlenmiştir [104]. Bu sonuçlar çalışmamızda ki (Çizelge 4) LDL, HDL, TG, VLDL, ALP verileriyle farklı; cholesterol düzeyleri ile benzerlik göstermektedir.

Kumar vd. (2011) yaptıkları bir başka çalışmada *Channa punctatus* ve *Clarias punctatus* iki tatlı su balıklarına sentetik bir pyrethroid olan Cypermethrin üç subletal konsantrasyonuna 96 saat süreyle maruz bırakmışlar ve test edilen her iki balık türleri, Cypermethrin yüksek konsantrasyonlarda üre düzeylerinde artış olduğunu

belirtmişlerdir [105]. Bu çalışmanın sonucu ile araştırmamızın üre düzeylerini (Çizelge 4) karşılaştırdığımızda azalış ve artışların görülmesi benzerlik ve farklılıkların olduğunu göstermektedir.

Yapılan çalışmada elde edilen veriler literatürde bildirilen değerlerle benzerlik göstermesinin yanında Deltamethrin pestisitinin *Carassius gibelio* bireylerinin biyokimyasal parametreleri üzerine etkileri sonucu bu parametrelerin düzeylerinde oluşan değişimler de tepkinin boyutunu ortaya koyması bakımından önemli bir kriterdir.

Balıkların kan dokusundaki biyokimyasal parametrelerin Deltamethrin pestisitine duyarlı olduğunu ve sucul ekosistemlerdeki kirliliğin ve bunun canlılar üzerine olan toksik etkilerinin belirlenmesinde biyoindikatör parametreler olarak kullanılabilceğini, bu araştırmamanın bölgede yürütülecek başka çalışmalarla kaynak oluşturacağını, yön verebileceğini söyleyebiliriz.

Sonuç olarak, sürekli artış gösteren insan nüfusu besnlere olan ihtiyacı artırmıştır. Bitkilerin yabancı ot, çeşitli hastalıklar ve parazitler gibi olumsuz etkenlerden korunması için çoğunlukla kimyasal maddelerin kullanımı tercih edilmektedir. Pestisitlerin uzun süreli kullanımı sonucu insan sağlığına zararlı etkileri vardır. Tarım ilaçları olarak kullanılan pestisitleri besin yolu ile insanların tüketmesi sonucu vücuda alınır. Gıda ihtiyacının karşılanması için geliştirilmiş olan pestisitler zaman içerisinde türlerin yok oluşlarından, mutasyon ve kansere kadar pek çok problemin ortaya çıkmasına neden olmuşlardır. Yoğun ve bilincsiz pestisit kullanımı sonucunda; toprakta, suda ve havada kendisi ya da dönüşüm ürünleri kalmaktadır. Pestisitlerin etkilerini azaltmak için halkın kullanım konusunda bilinçlendirilmelidir. Bunun için;

Pestisit kullanımı ile ilgili topluma eğitimler verilmeli. (Tüketiciler ve uygulayıcılar eğitilmelidir). Her bir pestisit için LD₅₀ konsantrasyonu bilinmeli. İnsan ve çevresi için daha az toksik olan pestisitler tercih edilmeli. Kalıcı organik kirliliğe neden olan pestisitler yasaklanmalıdır.

6. KAYNAK

- [1] Kırıcı, M., Kırıcı, M., Mesut Işık, Atamanalp, M., “İmidacloprid Ve Lambda-Cyhalothrin'in *Capoeta Capoeta* Umbla Böbrek Dokusunda Glikoz 6-Fosfat Dehidrogenaz Enzimi Üzerine In Vitro Etkileri” Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi, 2: 8-14, (2015).
- [2] Yıldayaz , Ö .,“Parathion Methyl (İnsektisit)'İN *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) Üzerindeki Genotoksik Etkisinin Eritrosit Mikronukleus Testi İle Belirlenmesi”, Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları, (2006).
- [3] Avcı, C. E., ”Deltamethrin (Pestisit; İnsektisit)'İN *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Anura) Üzerindeki Genotoksik Etkilerinin Eritrosit Mikronukleus Testi İle Belirlenmesi” Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, (2013).
- [4] Sarıgül, Z., Bekcan, S., “Herbisit Glifosatin *Daphnia Magna* Üzerine Akut Toksisitesi” Tarım Bilimleri Dergisi, 15 (2) 204-208, (2009).
- [5] Ünal, G., Gürkan, M. O., “ İnsektisitler kimyasal yapıları, toksikolojileri ve Ekotoksikolojileri”. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, 159, Ankara, (2001).
- [6] Velisek, J., Dobsikova, R.., Svobodova, Z., Modra, H., Luskova, V., “Effect of Deltamethrin on the Biochemical Profile of Common Carp (*Cyprinus carpio L.*)” Bull. Environ. Contam. Toxicol. 76:992–998, (2006).
- [7] Güneş, E., Sedat V. Yerli ,V. S “Effects of Deltamethrin on Lipase Activity in Guppies (*Poecilia reticulata*)” Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 11: 473-476, (2011)

- [8] Sayeed I, Parvez S, Pandey S, Bin-Hafeez B, Haque R, Raisuddin S.” Oxidative Stress Biomarkers Of Exposure To Deltamethrin In Freshwater Fish, Channa Punctatus Bloch”. Ecotoxicol Environ SafOct;56(2):295-301, (2003).
- [9] Berköz, M., Yalın, S., Çömelekoğlu, Ü., Mazmancı,B., Mazmancı, M. A., Ali Ünyayar, Eroğlu,P., “Deltamethrin'in Beyinde Oluşturduğu Oksidatif Hasarın Önlenmesinde Funalia Trogii'nin Rolü” Mersin Üniv. Sağlık Bilim Derg., 3(1), (2010).
- [10 Başçınar, N., “Dünyada Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Ülkemizin Geleceğine Bakış, Sümae Yunus Araştırma Bülteni”,4,6-8 , (2004).
- [11] Çelikkale, M. S.,“İç Su Balıkları ve Yetiştiriciliği”, Vol:128,Karadeniz Teknik Üniversitesi Basımevi Trabzon,Pp:1-460, (1994).
- [12] Yazgan, M. S., Türkiye'de Pestisit Kirliliği, Türkiye'de Çevre Kirlenmesi Öncelikleri Sempozyumu II, Gebze, 571-577., (1997).
- [13] İnce, N., Bekbölet, M., “Türkiye'de pestisit kullanımına ilişkin kirlenme öncelikleri, Türkiye'de Çevre Kirlenmesi Öncelikleri Sempozyumu I”, Boğaziçi Üniversitesi Çevre Bilimleri Enstitüsü, 2, 551-570., (1991).
- [14] Şahin, B., “Düzce'de bitki üretiminde kullanılan bitki koruma ürünlerinin kullanımı ve çevreye olan etkileri”, Düzce“nin Çevre Sorunları ve Çözüm Önerileri Çalıştayı, Ziraat Yüksek Mühendisi İl Gıda Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü, 4 Aralık. (2012).
- [15] Güler, Ç. ve Çobanoğlu, Z., “ Pestisitler, Çevre Sağlığı Kaynak Dizisi”, İlköz Matbaası, Ankara, 52: 173 , (1997).
- [16] Rand, G. M., Petrocelli, S. R., “Fundamentals of Aquatic toxicology, Methods and Applications”, Hemisphere Publishing Cooperation, Washington, 666, (1985).

- [17] Chau, A. S. Y., Afghan, B. K, Analysis of Pesticides in Water, Vol I,II,III, CRC Pres Inc., Boca Raton, Florida, (1982).
- [18] Rand, G. M., Petrocelli, S. R., “ Fundamentals of Aquatic Toxicology, Methods and Applications, Hemisphere Publishing Cooperation”, Washington, 666.,(1985)
- [19] Kocataş, A., “Ekoloji ve Çevre Biyolojisi”, Ege Univ., Su Ürünleri Fak.Yayınları, Bornova-İzmir,:442-443 , (1991).
- [20] Erdoğan, B. Y., “ Samsun'da Yaygın Olarak Kullanılan Pestisitlerin Sağlığa ve Çevreye Etkileri”Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Terme Meslek Yüksek Okulu Gıda İşleme Bölümü 28-35, (2010)
- [21] Çelikkale, M. S., İç Su Balıkları ve Yetiştiriciliği, Vol:128,Karadeniz Teknik Üniversitesi Basımevi Trabzon, Pp:1-460., (1994)
- [22] Cook, J. L., Baumann, P., Jackman, A. J. and Stevenson, D., “Pesticide Characteristics that Affect Water Quality” ,Texas University- Texas Agricultural Extension Service, USA. (URL: www.co.denton.tx.us/dept/aes.htm). (1993).
- [23] Başçınar, N., “Dünyada Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Ülkemizin Geleceğine Bakış”,Sümde Yunus Araştırma Bülteni,4,6-8, (2004).
- [24] Gey, H., “Çıldır Gölü'nün suyunda, sedimentinde ve buradan avlanan ekonomik değeri olan tatlı su kereviti ile bazı balık türlerinde çeşitli ağır metallerin birikim düzeylerinin incelenmesi”, (TÜBİTAK Projesi 106Y003), (2006).
- [25] Yıldırım, M. Z., Benli, A. C., Selvi, M., Özkul, A., Erkoç, F. and Koçak, O., “Acute Toxicity, Behavioral Changes, and Histopathological Effects of Deltamethrin on Tissues (Gills, Liver, Brain, Spleen, Kidney, Muscle, Skin) of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) Fingerlings”, Environmental Toxicology, (2006).

- [26] Kan, Y., Cengiz, E ., Ugurlu, P. and Yanar, M., “The protective role of vitamin E on gill and liver tissue histopathology and micronucleus frequencies in peripheral erythrocytes of *Oreochromis niloticus* exposed to Deltamethrin”, Environmental Toxicology and Pharmacology, 34: 170-179, (2012).
- [27] Köprücü, K. and Aydin, R., “The toxic effects of pyrethroid Deltamethrin on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae”, Pesticide Biochemistry and Physiology, 80: 47-53, (2004).
- [28] Ansari, R. A., Kaur, M., Ahmad, F., Rahman, S., Rashid, H., Islam, F. and Raisuddin, S., “Genotoxic and oxidative stress-inducing effects of Deltamethrin in the erythrocytes of a freshwater biomarker fish species, *Channa punctata*, Bloch”, Environmental Toxicology, 24: 429-436, (2009).
- [29] Amin, K. A. and Hashem, K. S., “Deltamethrin-induced oxidative stress and biochemical changes in tissues and blood of catfish (*Clarias gariepinus*): antioxidant defense and role of alpha-tocopherol”, BMC Veterinary Research, (2012).
- [30] Çalta, M.and Ural, M. S., “Acute Toxicity Of The Synthetic Pyrethroid Deltamethrin To Young Mirror Carp, *Cyprinus carpio*”, Fresenius Environmental Bulletin, 13 (11a): 1179-1183, (2004).
- [31] Ural, M.S., and Saglam N.,”A Study on the Acute Toxicity of Pyrethroid Deltamethrin on the Fry Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792)”, Pestic. Biochem. Physiol., 83(2-3): 124-131, (2005).
- [32] Cengiz, E. I. “ Gill and Kidney Histopathology in the Freshwater Fish *Cyprinus carpio* After Acute Exposure to Delamethrin” , Environmental Toxicology and Pharmacology, 22 (2): 200–204,(2006).

- [33] Cengiz, E. I., Unlu, E. "Sub-lethal Effects of Commercial Deltamethrin on the Structure of the Gill, Liver and Gut Tissues of Mosquitofish, *Gambusia affinis*:Amicroscopic Study", Environmental Toxicology and Pharmacology, 21 (3): 246–253, (2006).
- [34] Pereira, V. M., Bortolotto , J. W., Kist. L.W., Azevedo, M. B., Fritsch, R.S., Da Luz Oliveira, R., Brandao Pereira, T. C., Bonan, C. D., Ryff Vianna, M. and Bogo, M. R., " Endosulfan exposure inhibits brain AChE activity and impairs swimming performance in adult zebrafish (*Danio rerio*)", Neuro Toxicology, 33, 469–475,(2012).
- [35] Almeida, J. R., Oliveira, C., Gravato, C. and Guilhermino, L., " Linking behavioural alterations with biomarkers responses in the european sea bass ,*Dicentrarchus labrax* L. exposed to the organophosphate pesticide fenitrothion". Ecotoxicology, 19, 1369-1381, (2010).
- [36] Boran, H., Altınok, İ. and Çapkın, E., "Histopathological changes induced by maneb and carbaryl on some tissues of rainbow trout (*O. mykiss*)", Tissue and Cell, 42, 158–164, (2010).
- [37] Çapkın, E., Birincioğlu, S. and Altınok, İ., " Histopathological changes in rainbow trout (*O. mykiss*) after exposure to sublethal composite nitrogen fertilizers", Ecotoxicology and Environmental Safety, 72, 1999-2004, (2009).
- [38] Nemcsok, J. G. and Hughes, G. M., "The effect of copper sulphate on some biochemical parameters of rainbow trout. Environ", Pollut., 49, 77-85, (1988).
- [39] Atamanalp, M., "The effects of sublethal doses of cypermethrin on haematological and biochemical parameters of rainbow trout (*O. mykiss*)", Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, (2000).

- [40] Atamanalp, M., Keleş, M. S., Haliloglu, H. İ. and Aras, M. S., “ The effects of cypermethrin (a synthetic pyrethroid) on some biochemical parameters (Ca, P, Na and TP) of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)”, Turkish J. of Veterinary and Animal Sciences, 26, 1157-1160, (2002).
- [41] Atamanalp, M., Yanık, T., Haliloglu, H. İ. and Aras, M. S., “Alterations in the hematological parameters of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, exposed to cypermethrin”, The Israeli J. of Aquaculture Bamidgeh, 54 (2), 99-103, (2002).
- [42] Coğun, H. Y., Çapar, S. Ö., Çağlar, R., Taşyürek, K., Tanrıver, B., Özdemir, S., Er, C. E., Çimrin, İ. ve Sarıçicek, E., “ *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)’da dimethoatın bazı enzim sistemlerine toksik etkileri”, Anadolu Doğa Bilimleri Dergisi, 4 (2), 33-36, (2013).
- [43] Gholami Seyedkolaei, S. J., Mirvaghefi, A., Farahmand, H. and Kosari, A. A., “Effect of a glifosat based herbicide in *Cyprinus carpio*: Assessment of acetylcholinesterase activity, hematological responses and serum biochemical parameters”, Ecotoxicology and Environmental Safety, 98 (1), 135-141, (2013).
- [44] Velisek, J., Stara, A., Kolarova, J. and Svobodova, Z., “ Biochemical, physiological and morphological responses in common carp (*Cyprinus carpio* L.) after long term exposure to terbutryn in real environmental concentration”, Pesticide Biochemistry and Physiology, 100, 305-313, (2011).
- [45] Harabawy, A. S. A., Ahmed T. H. and Ibrahim, A., “Sublethal toxicity of carbofuran pesticide on the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822): Hematological, biochemical and cytogenetic response”, Ecotoxicology and Environmental Safety, 103, 61-67, (2014).
- [46] Velisek, J., Sudova, E., Machova, J. and Svobodova, Z. “. Effects of sub-chronic exposure to terbutryn in common carp (*Cyprinus carpio* L.)”, Ecotoxicology and Environmental Safety, 73 (3), 384-390, (2010).

- [47] Crupkin, A. C., Carriquiriborde, P., Mendieta, J., Panzeri, A. M., Ballesteros, M. L., Miglioranza, K. S. B. and Menone, M. L., “Oxidative stress and genotoxicity in the South American cichlid, *Australoheros facetus*, after short term sublethal exposure to endosulfan”, Pesticide Biochemistry and Physiology, 105, 102–110, (2013).
- [48] Golow, A. A. and Godzi, T. A., “Acute toxicity of Deltamethrin and dieldrin to *Oreochromis niloticus* (LIN)”, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 52: 351-54, (1994).
- [49] Al-Ghanbouis, R., BA-Omar, T. and Victor, R., “Effect of Deltamethrin on the gills of *Aphanius dispar*: A microscopic study”, Tissue and Cell, 44: 7-14, (2012).
- [50] Sharma, K., Ansari, A. B., “Effect of the synthetic pyrethroid Deltamethrin and the neem-based pesticide Achook on the reproductive ability of zebrafish, *Danio rerio* (Cyprinidae)”, Arch. Pol. Fish., 18: 157-161, (2010).
- [51] Velisek, J., Jurcikov, J., Dobsikov, R., Svobodov, Z., Piackov, V., Machov, J. and Novotn, L., “Effects of Deltamethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)”, Environmental Toxicology and Pharmacology, 23, 297–301,(2007).
- [52] El-Sayed Y. S., Saad, T. T. “Subacute Intoxication of a Deltamethrin-Based Preparation (Butox ® 5% EC) in Monosex Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* L.”. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 102: 293–299, (2007).
- [53] Kumar, S., Latta, S. and Gopal, K., “Deltamethrin Induced Physiological Changes in Freshwater Cat Fish *Heteropneustes fossilis*”, Environmental Contamination and Toxicology, 62: 254-258, (1999).
- [54] Svobodova, Z., Luskova, V., Drastichova, J., Svoboda, M. and Ilabek, V., “Effect of Deltamethrin on Haematological Indices of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.), Acta Vet. Brno, 72: 79–85, (2003).

- [55] Datta, M., Kaviraj, A., “Acute Toxicity of the Synthetic Pyrethroid Deltamethrin to Freshwater Catfish *Clarias gariepinus*”, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 70: 296–299, (2003).
- [56] Verep, B., “A Research on the Sensitivity of European Chub to Some Pesticides”, Fresenius Environ. Bull., 15(12A): 1517-1520 ,(2006).
- [57] Balint, T., Szegletes, T., Szegletes, Z., Halasy, K., Nemcsók, J. “ Biochemical and Subcellular Changes in Carp Exposed to the Organophosphorous Metidation and the Pyrethroid Deltamethrin”, Aquatic Toxicology, 33: 279-295, (1995).
- [58] Yılmaz, M., Ersan, Y., Karaman, M., Özen, H., Koç, E., Necefoglu, H. “Toxic Effects of Cobalt Parahydroxybenzoate on Tissue Histopathology and Serum Proteins in Capoeta capoeta capoeta,. Fresenius Environmental Bulletin, (17):9a, 1322-1327, (2008).
- [59] USEPA. “Ecological soil screening levels for cobalt.” Washington, DC: US EPA; (2005).
- [60] Greene, D. H. S. and Selivonchick, D. P., “Effects of dietary vegetable, animal and marine lipids on muscle lipid and hematology of rainbow trout (*O. mykiss*)”, Aquaculture, 89, 165-182, (1990).
- [61] Arslan, H., “Pestisit Sinerjisinin; Gökkuşağı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Yüzme Performansi, Biyokimyasal, Hematolojik Histopatolojik Ve Genotoksik Etkilerinin Araştırılması” Doktora Tezi , Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı .Erzurum, (2015).
- [62] Weber K., Pringle, J.R., Osborn, M., “Measurement of molecular weights by electrophoresis on SDS-Acrylamide gel”, Meth. Enzgmologie, 3-9, (1972).

- [63] Fenech, M. and Crott, J. W. "Micronuclei, nucleoplasmic bridges and nuclear buds induced in folic acid deficient human lymphocytes-evidence for breakagefusion- bridge cycles in the cytokinesis-block micronucleus assay", Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, Mutation Research, 504:131-136 , (2002).
- [64] Heddle, J. A., Hite, M., Kirkhart, B., Mavournn, K., Macgregor, J. T., Newell, G. W. and Salamone, M. F. "The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program", Mutation Research, 123: 61-118, (1983).
- [65] Könen, S., "Triflularin ve Askorbik Asit Kombinasyonlarının *Oreochromis niloticus* üzerindeki Genotoksik ve Antigenotoksik Etkilerinin Mikronükleus Testi Kullanılarak Arastırılması", Mersin üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Mersin, 11-12 , (2007)
- [66] Erel, Ö., "A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable abts radical cation", Clinical Biochemistry, 37: 277-285, (2004).
- [67] Erel, Ö., "A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status", Clinical Biochemistry, 38: 1103-1111, (2005).
- [68] Gündüz, S. G., Özkan., Y. F., Baştürk, Ö. "Chlorpyrifosun *Cyprinus Carpio* (L., 1758) Üzerine Akut Toksisitesi" Yunus Araştırma Bülteni, (1): 8-12, (2012).
- [69] Viran, R., Ünlü Erkoç, F., Polat, H. and Koçak, O., "Investigation of acute toxicity of Deltamethrin on guppies (*Poecilia reticulata*)", Ecotoxicology and Environmental Safety, 55: 82-85 (2003).
- [70] Düzel, S.. "Sentetik Piretrit Deltamethrin'in *Pseudorasbora parva* (Temminck & Schlegel, 1846) Üzerindeki Akut ve Genotoksik Etkileri" Yüksek Lisans Tezi. Çevre Bilimi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü , Ankara, (2013).

- [71] Çapkin, E., Altınok. İ., “Endosulfanın Juvenil Gökkuşağı Alabalıkları (*Oncorhynchus Mykiss*) Üzerine Akut Toksik Etkilerinin Belirlenmesi” Ulusal Su Günleri , Trabzon, (2005).
- [72] Cengiz, E. İ., “Gill and kidney histopathology in the freshwater fish (*Cyprinus carpio*) after acute exposure Deltamethrin”, Environmental Toxicology and Pharmacology. 22(2): 200-204, (2006).
- [73] Yön, D. N., Akbulut, C., Merve Abar,M., Figen Esin Kayhan, S. F., Kaymak, G., “Histological Changes İn The Liver Of The Swordtail Fish, *Xiphophorus Helleri* (*Pisces poecilidae*) After Exposure To Deltamethrin”, European International Journal Of Applied Science And Technology Vol. 1 No. 3, (2014)
- [74] Yılayaz, Ö., “Parathion Methyl (Nsektisit)’In *Barbus rajanorum mystaceus* (Heckel,1843) Üzerindeki Genotoksik Etkisinin Eritrosit Mikronükleus Testi İle Belirlenmesi”, Doğu Anadolu Böl. Arastırmaları Der., 4 (1): 72-76, (2005).
- [75] Yılayaz, Ö., “Chlorpyrifos Ethyl (Insektisit)’In *Capoeta trutta* (Heckel,1843) Üzerindeki Genotoksik Etkisinin Eritrosit Mikronükleus Testi İle Belirlenmesi”, Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları Der., 6 (2): 70-74, (2008).
- [76] Çavas, T. and Gözükara Ergene, S., “Evaluation of the genotoxic potential of lambda-cyhalothrin using nuclear and nucleolar biomarkers on fish cells”, Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 534: 93-99, (2003).
- [77] Crupkin, A. C., Carriquiriborde, P., Mendieta, J., Panzeri, A. M., Ballesteros, M. L., Miglioranza, K. S. B. & Menone, M. L. “Oxidative stress and genotoxicity in the South American cichlid, *Australoheros facetus*, after short-term sublethal exposure to endosulfan”. Pesticide Biochemistry and Physiology, 105, 102-110, (2013).

- [78] Düzel, S., "SentetikPiretroid Deltametri'nin *Pseudorasbora parva* (*Temminck & Schlegel*, 1846) Üzerindeki Akut ve Genotoksik Etkileri", (Yüksek Lisans Tezi) Gazi Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, (2013).
- [79] Ansari, R. A., Kaur, M., Ahmad, F., Rahman, S., Rashid, H., Islam, F. and Raisuddin, S., "Genotoxic and oxidative stress-inducing effects of Deltamethrin in the erythrocytes of a freshwater biomarker fish species, *Channa punctata*, Bloch", Environmental Toxicology, 24: 429-436 (2009).
- [80] Şahan, A. and Cengizler, İ., " Determination of some hematological parameters in spotted barb (*Capoeta barroisi*, 1894) and roach (*Rutilus rutilus*, 1758) living in seyhan river (Adana city region)", Turkish Journal of Veterinary Animal Science, 26, 849-858, (2002).
- [81] Yilmaz, M., Türköz, Y., Erdemli, A.Ü., Kalkan, E., Çiğremiş, Y. Karakaya Baraj Gölü Bazı Balıklarının Kan Serum Proteinlerinin Elektroforetik Modelleri Üzerine Taksonomik Bir Çalışma. Selçuk Üniv. Vet. Bil. Derg. 16, 2: 89-92, (2000).
- [82] Yilmaz, M., Çiğremiş, Y., Türköz, Y., Ve Gaffaroğlu, M. A Taxonomic Study On Orthrias Insignis Euphraticus (Banarescu And Nalbant, 1964) Ve *Cyprinion macrostomus* (Heckel, 1843) By Sarcoplasmic Protein Electrophoresis. Gazi Univ. Journal Of Science.18(1);61-68, (2005).
- [83] Yılmaz, M., Ayaz, M., "Serum protein elektroforezi ile *Carassius carassius*, *Capoeta capoeta* ve *Siluris glanis* üzerine taksonomik bir çalışma", USG Bildiri, , Trabzon, (2005).
- [84] Yılmaz, M., İldeş, E., Alas, A., Koç, E. "Kars Çayı'nda Yaşayan Bazı Balitorid Ve Cobitid Balıkların Sarkoplazmik Proteinleri Üzerine Elektroforetik Taksonomik Bir Çalışma", Kafkas Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 1(2): 69-74, (2008).

- [85] Karademir, B., Koç, E., Ersan ,Y., Yilmaz, M. The Effect of Copper (II) Sulphate Toxication on The Liver Histopathology, Live Electrophoresis and Plasma Biochemistry of Mice (*Mus musculus*) Van VetJ, ,26(1)25-30, (2015).
- [86] Lavanya, S., Ramesh, M., Kavitha, C. and Malarvizhi, A. “Hematological, biochemical and ionoregulatory responses of Indian major carp Catla catla during chronic sublethal exposure to inorganic arsenic”, Chemosphere, 82; 977–985,(2011).
- [87] Kaya ,İ., Yilmaz ,M., Koç ,E., Deveci, H.A., Ersan ,Y., Karapehlivan, M., “Investigation of The Serum Total Antioxidant, Oxidant and Sialic Acid Levels of *Cyprinus carpio* (L. 1758) Treated With Tebuconazole (Fungicide)”, J FisheriesSciences.com, 8(3): 214-219, (2014).
- [88] Nemcsok, J. And Hughes, G. M., “The Effect Of Copper Sulphate On Some Biochemical Parameters Of Rainbow Trout”, Environ. Pollut., 49: 77–85,(1988).
- [89] Pappas, N. J. Jr. “Diagnostic enzymology. Clin. Lab. Med., 9; 595-826. Nemcsok, J. and Hughes, G. M. 1988. The effect of copper sulphate on some biochemical parameters of rainbow trout”, Environ. Pollut., 49; 77–85, (1989).
- [90] Bucher, F. and Hofer, R., “Effects of domestic wastewater on serum enzyme activities of brown trout (*Salmo trutta*). Comp”. Biochem. Physiol., 97 C; 381–385, (1990).
- [91] Öner, M., Atli, G., and Canli, M., “Changes in serum biochemical parameters of freshwater fish *Oreochromis niloticus* following prolonged metal (Ag, Cd, Cr, Cu, Zn) exposures”, Environ. Toxicol. Chem., 27; 360–366,(2008).
- [92] Fırat, Ö., Coğun, H. Y., Yüzereroğlu, T. A., Gök, G., Fırat, Ö., Kargin, F. and Kötemen Y. “A comparative study on the effects of a pesticide (cypermethrin) and two metals (copper, lead) to serum biochemistry of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*”. Fish Physiol. Biochem., 37; 657-666, (2011).

- [93] Li, Z. H., Velisek, J., Zlabek, V., Grabic, R., Machova, J., Kolarova, J., Li, P. and Randak, T., “ Chronic toxicity of verapamil on juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effects on morphological indices, hematological parameters and antioxidant responses”. *J. Hazard. Mater.*, 30; 185; 870-80, (2011).
- [94] Wang, X. and Zhai, W., “ Cellular and biochemical factors in bron-choalveolar lavage fluids of rats exposed to fenvalerate. *Zhongguo Yaolixue Yu Dulixue Zoghi*, 2; 271-276, (1988).
- [95] Burtis, C. A., Ashwood, E. R. And Tietz, N. W. “In: Aldrich, J. E. (Ed.), Fundamentals of clinical chemistry”, Saunders Company, W. B., ISBN: 0-7216-3763-9 Dallas Texas, (1996).
- [96] Borges, A., Scotti, L. V., Siqueira, D. R., Zanini, R., Amaral, F., Jurinitz, D. F. and Wassermann, G. F., “ Changes in hematological and serum biochemical values in jundiá Rhamdia quelen due to sub-lethal toxicity of cypermethrin”, *Chemosphere*, 69; 920–926. Das, B. K. and Mukherjee, S. C, (2007).
- [97] El-Sayed, Y. S. and Saad, T. T., “ Sub-acute intoxication of a Deltamethrin-based preparation (Butox® 5% EC) in monosex Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L” . *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, 102; 293–299, (2008).
- [98] Agrahari, S., Pandey, K. C. and Gopal, K. Biochemical alteration induced by monocrotophos in the blood plasma of fish, *Channa punctatus* (Bloch). *Pestic. Biochem. Phys.*, 88; 268-272 ,(2007).
- [99] Mehra ,B. L., Sharma, P., Kaushik, U., Joshi, S. C., “Effect of Fytolan on Haematology and Serum Parameters of Male Albino Rats”, e-ISSN: 2348-6465, 2(4), s332-s338 (2014).

- [100] Croke, S. J. and McDonald, D. G., “ The further development of ionoregulatory measures as biomarkers of sensitivity and effect in fish species “. Environ. Toxicol. Chem., 21(8); 1683-1691, (2002).
- [101] Mayer, F. L., Versteeg ,D. J., Mc Kee, M..J, Folmar, L.C., Graney ,R.L., Mc,Cume, D.C, Rattner, B,A “Physiological and nonspecific biomarkers. In: Huggett RJ, Kimerle RA, Mehrle PMJ, Bergman HL (eds) Biomarkers: biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress”. Lewis Publishers, Chelsea, pp 5–86,(1992).
- [102] Saha, S., Kaviraj, A.,“Effects of Cypermethrin on Some Biochemical Parameters and Its Amelioration Through Dietary Supplementation of Ascorbic Acid in Freshwater Cat fish *Heteropneustes fossilis*”, Chemosphere 74, s1254–s1259 (2009).
- [103] Atamanalp, M., Keles, S. M., Aras, S. M ., “Cypermethrin (Sentetik Pyretroit)’ in Gökkuşağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)’nın Alkalin Fosfataz, Kolesterol, Glikoz ve Kreatin Aktivitesine Etkisi”, Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 33(4), s425-s428 (2002).
- [104] Kumar,S., “Acute Toxicity Evaluation of Nuwan in Liver of Channa punctatus (Bloch.)”, Advance Research in Agriculture and Veterinary Science 1, s35-s38 (2014).
- [105] Kumar, A., Sharma, B., Pandey,S. R., “Cypermethrin Induced Alterations in Nitrogen Metabolism in Freshwater Fishes”, Chemosphere 4(83), s492–s501 (2011).

7. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Neriman GEY

Doğum Yeri :.Güllübahçe-Söke/AYDIN

Doğum Tarihi :.30.06.1958

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Aydın Sağlık Meslek Lisesi

Lisans : Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi
Biyoloji Bölümü-SİVAS

Yüksek Lisans: Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Zooloji Anabilim Dalı -
2016