T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANA BİLİM DALI

BAZI PESTİSİTLERİN GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*) BİYOKİMYASAL, HİSTOPATOLOJİK VE GENOTOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

MABROUKAH ADREES RAFALLAH SAED

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DOÇ. DR. ERTUĞRUL TERZİ

ARALIK - 2020
KASTAMONU

TEZ ONAYI

MABROUKAH ADREES RAFALLAH SAED tarafından hazırlanan "**BAZI PESTİSİTLERİN GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*) BİYOKİMYASAL, HİSTOPATOLOJİK VE GENOTOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**" adlı tez çalışmasının savunma sınavı **28.12.2020** tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Su Ürünleri Yetiştiriciliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Doç. Dr. Ertuğrul TERZİ Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Soner BİLEN Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi Rafet Çağrı ÖZTÜRK Karadeniz Teknik Üniversitesi	.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Enstitü Müdürü Prof. Dr. İzzet ŞENER .....

TAAHHÜTNAME

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu; ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını, bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini bildirir ve taahhüt ederim.



Mabroukah Adrees Rafallah SAED

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI PESTİSİTLERİN GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*) BİYOKİMYASAL, HİSTOPATOLOJİK VE GENOTOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

MABROUKAH ADREES RAFALLAH SAED

KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN:DOÇ. DR. ERTUĞRUL TERZİ

Tarımsal alanlarda kullanılan pestisitlerin hedef tür dışında hedef dışı canlıları etkilediği bilinmektedir. Bu pestisitler sucul ortamlara karıştıktan sonra balıklar gibi sucul canlıları öldürür veya hayati organlarda histopatolojik etkiler yapar. Bu çalışmada piriproksifen (150-300 µg/L), imazamoks (50-100 mg/L) ve hymeksazolün (150-300 mg/L) subletal konsantrasyonlarına 96 saat boyunca maruz bırakılan gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) meydana gelen biyokimyasal, histopatolojik ve genotoksik etkiler araştırılmıştır. 48. ve 96. saatlerde alınan plazma örneklerinden biyokimyasal parametreler, solungaç, karaciğer, böbrek ve dalaktan histopatolojik değerlendirme ve kan hücrelerinden de DNA hasarı araştırılmıştır. Piriproksifenin yüksek konsantrasyonuna maruz bırakılan balıkların biyokimyasal parametrelerinden kolesterol, ALP, trigliserid, toplam protein seviyeleri kontrol grubuna kıyasla önemli farklılık göstermiştir ($P<0,05$). Pestisitlerin subletal konsantrasyonlarının histopatolojik etkilerinde ise zaman ve konsantrasyon artışına bağlı olarak etkilerin arttığı belirlenmiştir. Her üç pestisitin de 96. saatteki yüksek konsantrasyonlarında solungaçlarda hiperplazi şiddetli olarak görülmüştür. Karaciğerde de hymeksazol ve imazamoks için hepatositlerde şiddetli hasar tespit edilmiştir. Böbrek tubüllerinde her üç pestisit için zamana ve kosantrasyona bağlı olarak hasar şiddetinde artışlar tespit edilirken dalakta ise nükleer dejenerasyon ve parankim hücrelerinde nekrozlar şiddetli seviyede tespit edilmiştir. Balıkların kan hücrelerinde konsantrasyon ve zamana bağlı olarak DNA zincir kırıkları tespit edilmiştir. DNA hasarının piriproksifenin yüksek konsantrasyonuna (300 µg/L) maruz bırakılan balıklarda daha yüksek olduğu (% 87,22±4,47) ve bunu imazamoks (% 44,32±10,59) ve hymeksazolün (% 39,24±9,35) yüksek konsantrasyonları takip etmiştir. Sonuç olarak pestisitlerin biyokimyasal, histopatolojik ve genotoksik etkilerinin konsantrasyona ve zamana bağlı olarak arttığı görülmüştür. Bu yüzden bu pestisitler kullanılırken sucul ortamların korunması için daha dikkatli olunmalıdır.

ANAHTAR KELİMELER: Alabalık, pestisit, biyokimyasal etki, histopatoloji, DNA hasarı

Aralık 2020, 59 Sayfa

ABSTRACT

MSC THESIS

DETERMINATION OF BIOCHEMICAL, HISTOPATHOLOGICAL AND GENOTOXIC EFFECTS OF SOME PESTICIDES ON RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*)

MABROUKAH ADREES RAFALLAH SAED

KASTAMONU UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF AQUACULTURE
SUPERVISOR:ASSOC. PROF. DR. ERTUĞRUL TERZİ

It is known that pesticides used in agricultural fields affect non-target organisms other than the target species. These pesticides kill aquatic organisms such as fish or have histopathological effects on vital organs after they enter the aquatic environment. In this study, biochemical, histopathological and genotoxic effects were investigated in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) exposed to subletal concentrations of pyriproxyfen (150-300 µg/L), imazamox (50-100 mg/L) and hymexazol (150-300 mg/L) for 96 hours. Biochemical parameters from plasma samples, histopathological evaluation from gill, liver, kidney and spleen, and DNA damage from blood cells were investigated in 48 and 96. hours. Cholesterol, ALP, triglyceride, and total protein levels of fish exposed to higher concentration of pyriproxyfen showed significant difference compared to the control group ($P < 0.05$). On the histopathological effects of sub-lethal concentrations of pesticides, it was determined that the effects increased depending on the time and concentration increase. Hyperplasia in the gills was observed as severe at high concentrations of all three pesticides at 96 h. For hymexazol and imazamox, Severe damage was observed in hepatocytes of the liver. While increases in the severity of damage were detected depending on time and concentration for all three pesticides in kidney tubules, nuclear degeneration and necroses in parenchymal cells were detected at an excessive level in the spleen. DNA strand breaks were detected in the blood cells of fish depending on the concentration and time. DNA damage was higher (87.22 ± 4.47%) in fish exposed to high concentrations of pyrproxyfen (300 µg/L), followed by high concentrations of imazamox (44.32 ± 10.59%) and hymexazol (39.24 ± 9.35%). In conclusion, it was observed that the biochemical, histopathological and genotoxic effects of pesticides increased depending on the concentration and time. Therefore, while using these pesticides, we should be more careful to protect aquatic environments.

KEYWORDS: Trout, pesticide, biochemical effect, histopathology, DNA damage

December 2020, 59 Pages

TEŞEKKÜR

Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiriciliği Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanan bu çalışmada; tarımsal alanlarda zirai mücadelede kullanılan piriproksifen, imazamoks ve hymeksazol pestisitlerinin subletal konsantrasyonlarının gökkuşağı alabalıklarında biyokimyasal, histopatolojik ve genotoksik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yüksek lisans tez konusunun belirlenmesinde, çalışmaların yürütülmesinde ve elde edilen verilerin değerlendirilmesinde öneri ve paylaşımlarıyla desteklerini esirgemeyen danışman hocam sayın Doç. Dr. Ertuğrul TERZİ'ye teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarının histopatolojik değerlendirmelerdeki katkılarından dolayı Doç. Dr. Mehmet ÖZBEK'e, hem laboratuvar hem de tez yazım aşamalarındaki katkılarından dolayı Arş. Gör. Osman Nezih KENANOĞLU'na teşekkür ederim. Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve becerilerini benden esirgemeyen Kastamonu Üniversitesi akademik personeline ayrıca teşekkür ederim. Hayatımın her aşamasında üzerimde desteklerini hissettiğim sevgili aileme teşekkür ederim.

MABROUKAH ADREES RAFALLAH SAED

Kastamonu, 2020

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ ONAYI ..... **ii**
TAAHHÜTNAME ..... **iii**
ÖZET ..... **iv**
ABSTRACT ..... **v**
TEŞEKKÜR ..... **vi**
İÇİNDEKİLER ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **viii**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **x**
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **xi**
1. GİRİŞ **1**
1.1.1 İmazamoksun Kullanım Alanları 4
1.1.2 Piriproksifenin Kullanım Alanları 5
1.1.3 Hymeksazolün Kullanım Alanları 5
1.2 Pestisitlerin Sucul Ortam Üzerine Etkileri 6
1.3 Sucul Toksikoloji Deneyleri 8
1.4 Toksikolojik Testlerde Su Kalitesi 10
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR **12**
3. MATERYAL VE YÖNTEM **17**
3.1 Materyal 17
3.1.1 Pestisitler 17
3.1.2 Deneme Balıkları 17
3.1.3 Deneme Yeri ve Deney Sistemi 18
3.2 Yöntem 19
3.2.1 Test Suyu Kalitesinin Belirlenmesi 19
3.2.2 Toksikolojik Testlerin Yapılışı 19
3.2.3 Biyokimyasal Parametrelerin Analizi 19
3.2.4 Histopatolojik İncelemeler 20
3.2.5 DNA Hasarının Belirlenmesi (Comet Assay) 20
3.2.6 İstatistiksel Analizler 21
4. BULGULAR **22**
4.1 Biyokimyasal Parametreler 22
4.2 Histopatoloji Bulguları 24
4.3 DNA Hasarı (Comet Assay) 31
5. TARTIŞMA **34**
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER **45**
KAYNAKLAR **47**
ÖZGEÇMİŞ **59**

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 3.1 Çalışmalarda kullanılan pestisitler. A: Piriproksifen; B: İmazamoks; C: Hymeksazol 17
Şekil 3.2 Çalışmada kullanılan 100 litrelik deneme sistemi 18
Şekil 4.1 Kontrol grubundaki balıklardan alınan karaciğer, dalak, böbrek ve solungaçların genel görünümü. VC: Vena sentralis. RP: Kırmızı pulpa. WP: Beyaz pulpa. T: Böbrek tubulleri. G: Glomerulus. Mavi ok: Melanomakrofaj. H&E. Bar:50 µm 25
Şekil 4.2 Pestisitlere maruz bırakılan gökkuşağı alabalıkların solungaçlarındaki histopatolojik değişimler. Siyah ok başları: Sekonder lamellerdeki epitel hücrelerinde ayrılma, Kırmızı ok başları: Epitel hücrelerinde hiperplazi, Siyah asteriksler: Sekonder lamellerde anevrizmalar, H: Hiperemi, LF: Lamellar füzyon, H: Hymeksazol, I: İmazamoks, P: Piriproksifen, D: Düşük Konsantrasyon, Y: Yüksek Konsantrasyon, 48: 48 saat, 96: 96 saat, H&E. Bar:100 µm 26
Şekil 4.3 Pestisitlere maruz bırakılan gökkuşağı alabalıkların karaciğerindeki histopatolojik değişim. Mavi ok başları: Hepatositlerde vakoulazisyon. Mor ok başları: Piknotik çekirdekli hepatositler. Mavi asteriksler: Nekrotik alanlar. H: Hiperemi. VC: Vena sentralis. H: Hymeksazol, I: İmazamoks, P: Piriproksifen, D: Düşük Konsantrasyon, Y: Yüksek Konsantrasyon, 48: 48 saat, 96: 96 saat, H&E. Bar:50 µm 27
Şekil 4.4 Pestisitlere maruz bırakılan gökkuşağı alabalıkların böbreklerindeki histopatolojik değişim. Yeşil oklar: Tubul epitel hücrelerinde vakoulazisyon. Kırmızı oklar: Tubullerde nekroz ve dejenerasyon. Mavi asteriks: Bowman aralığında genişleme. Mavi oklar: Melanomakrofajlar. Mavi asteriksler: Nekrotik alanlar. Kırmızı asteriks: Hiperemi. IH: İntersitisyel hemoraji. H: Hymeksazol, I: İmazamoks, P: Piriproksifen, D: Düşük Konsantrasyon, Y: Yüksek Konsantrasyon, 48: 48 saat, 96: 96 saat, H&E. Bar:50 µm 28
Şekil 4.5 Pestisitlere maruz bırakılan gökkuşağı alabalıkların dalaklarındaki histopatolojik değişim. Yeşil ok başları: Piknotik çekirdekli hücreler. Mavi asteriksler: Nekrotik hücreler. Mavi oklar: Melanomakrofajlar. RP: Kırmızı pulpa, WP: Beyaz pulpa, H: Hymeksazol, I: İmazamoks, P: Piriproksifen, D: Düşük Konsantrasyon, Y: Yüksek Konsantrasyon, 48: 48. saat, 96: 96. saat, H&E. Bar:50 µm 29
Şekil 4.6 Pestisitlerin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan gökkuşağı alabalıklarının kırmızı kan hücrelerindeki DNA hasarları (% kuyruk DNA) (ortalama±standartsapma). P. Kontrol) Pozitif Kontrol, P) Piriproksifen, H) Hymeksazol, İ) İmazamoks 32

Şekil 4.7 Pestisitlerin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan gökkuşağı alabalıklarının kan hücrelerinde Comet oluşumu. (a) Kontrol, (b) H2O2 ile pozitif kontrol, c) Hymeksazol 150 mg/L, d) Hymeksazol 300 mg/L, e) İmazamoks 50 mg/L, f) İmazamoks 100 mg/L, g) Piriproksifen 150 µg/L, h) Piriproksifen 300 µg/L .. 33

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1 Pestisitlerin formülasyonlarına ve zararlı grubuna göre sınıflandırılması. 2
Tablo 1.2 Pestisitlerin zarar seviyelerine göre sınıflandırılması. 3
Tablo 1.3 Yıllık pestisit tüketiminin ülkelere göre sıralaması (FAOSTAT, 2020). 3
Tablo 1.4 Türkiye'de kullanılan pestisitlerin dağılımı (FAOSTAT, 2020). 4
Tablo 1.5 Akut toksikolojik deneylerde kullanılacak suların özellikleri..... 11
Tablo 4.1 Piriproksifenin farklı subletal konsantrasyonlarının gökkuşağı alabalıklarında biyokimyasal parametrelere etkisi (ort±standart sapma). 22
Tablo 4.2 Hymeksazolün farklı subletal konsantrasyonlarının gökkuşağı alabalıklarında biyokimyasal parametrelere etkisi (ort±standart sapma). 23
Tablo 4.3 İmazamoksun farklı subletal konsantrasyonlarının gökkuşağı alabalıklarında biyokimyasal parametrelere etkisi (ort±standart sapma). 24
Tablo 4.4 Pestisitlere maruz bırakılan gökkuşağı alabalıkların solungaç, karaciğer, böbrek ve dalak dokularında meydana gelen histopatolojik bulgular..... 30
Tablo 4.5 Pestisitlerin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan gökkuşağı alabalıklarının kan hücrelerindeki comet assay değerleri (ortalama±standart sapma) 32

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

%	**:** Yüzde
°	**:** Derece
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
dk	: Dakika
g	: Gram
kg	: Kilogram
l	: Litre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
U	: Ünite

Kısaltmalar

LC	**:** Letal konsantrasyon
DNA	**:** Deoksiribonükleik asit
H_2O_2	**:** Hidrojen peroksit
GLU	**:** Glukoz
ALT	**:** Alanin Transaminaz
ALP	**:** Alkalen Fosfataz

1. GİRİŞ

Su kirliliği evsel, tarımsal ve endüstriyel atıkların doğrudan ya da dolaylı olarak alıcı ortamlara karışmasıyla ortamın ekolojik dengesini bozan ve ortamlarda olumsuz yönde etkiler bırakan kalite değişimidir (Sönmez vd., 2008). Sular dünya üzerinde aşırı seviyerlerde antropojenik etkilerle karşı karşıya kalmaktadır (Halpern vd., 2008). Şehirleşme, endüstriyel ve tarımsal faaliyetler sonucu gübreler, organik bileşikler, ağır metaller, pestisitler ve tüm atık su kaynakları gerekli arıtma yapılmaksızın alıcı ortamlara karışmaktadır ve bu durum bu ortamlarda ötröfikasyon, toksisite, canlı dokusunda birikim ve patojen mikroorganizmaların gelişmesine sebep olabilmektedir (Nogales vd., 2011).

Sucul ortamın su kalitesindeki olumsuz değişiklikler sucul canlılar açısından önem arz etmektedir. Bu olumsuz değişiklikler örneğin balıklarda strese sebep olmaktadır. Sudaki çözünmüş oksijenin yetersiz olduğu durumlarda balıkların hareketlerinde yavaşlama, tank veya havuzların giriş kısımlarında toplanma, suyun yüzeyine ani sıçramalar ve balıklarda toplu şekilde ölümler meydana gelebilmektedir. Su sıcaklığı, balıklarda beslenme ve üreme gibi fizyolojik durumlarda etkin rol oynamasının yanında kirletici maddelerin toksik etkilerini arttırdığı da bildirilmiştir (Terzi ve Verep, 2012). Sudaki çözünmüş gazlar, pH, askıda katı madde miktarları gibi faktörler de balık sağlığını etkileyen önemli çevresel kriterlerdendir (Lasee, 1995; Plumb, 1999).

Tarım arazileri için kullanılan kimyasallar ve insan aktiviteleri sonucu çevre sorunlarıyla beraber oluşan atık sular, yüzey suları olan açık ve kapalı havzalarda kirlilik teşkil etmektedir. Bu suların kirlenmesine sebep olan kimyasal maddeler sucul ortamlardaki balıkların toksik etkilerinin yanında balık dokularında birikime sebep olabilmektdir. Dolayısıyla bu canlılarla beslenen insanların sağıklarında da risk olarak karşımıza çıkmaktadır.

Tarımsal alanlarda yabancı ot, böcek, mantar vb. ile mücadelede kullanılan pestisitler hedef türden ortamlardaki hedef dışı omurgasız ve balık gibi başka türlere de etkileri vardır (Burkepile vd., 2000). Zirai boşaltım ve sulama ile birlikte pestisitler sucul

ortamlara karışmaktadır. Bu kirleticiler izin verilen limitlerden daha yüksek konsantrasyonlarda su ortamlarında karıştıklarında sucul canlılarda yüksek ölüm oranlarında sebep olabilmektdir. Düşük konsantrasyonlarda ise dokularda biyobirikime sebep olur dolayısıyla besin ağı vasıtasıyla insanlara kadar ulaşabilmektedir (Ullah ve Zorriehzahra, 2014)

1.1 Pestisitlerin Sınıflandırılması ve Kullanımı

Zirai mücadele amacıyla tarımsal alanlarda insektisit, fungusit, bakterisit, herbisit vb. olarak oniki bin civarında aktif kimyasal madde içeren pestisitler kullanılmaktadır. Bu pestisitler etkiledikleri zararlı grubuna ve biyolojik dönemine, kullanma tekniğine, formülasyon şekillerine, etkilediği, zararlılara etki yollarına, kontrol ettiği zararlının bulunduğu yere, toksik özelliklerine, ilacın fiziki haline ve bileşmindeki ekili madde grubuna göre pek çok değişik şekilde sınıflandırılmaktadır. Pestisitlerin formülasyonlarına ve zararlı grubuna göre sınıflandırma en yaygın kullanılanlardandır (Tablo 1.1) (DPT, 2001; EPA, 2003). Ayrıca pestisitler zarar seviyelerine göre de Dünya Sağlık Örgütü tarafından sınıflandırılmıştır (Tablo 1.2) (WHO, 2019).

Tablo 1.1 Pestisitlerin formülasyonlarına ve zararlı grubuna göre sınıflandırılması.

Formülasyon şekillerine göre	Zararlı gruplarına göre
Toz ilaçlar	İnsektisit (Böcekleri öldürenler)
Islanabilir toz ilaçlar	Fungusit (Mantarları öldürenler)
Suda çözülebilir toz ilaçlar	Fungustatik (Mantar faaliyetini durduranlar)
Toz tohum ilaçlar	Herbisit (Yabani otları öldürenler)
Solüsyon konsantre ilaçlar	Akarisit (Örümcek ve akarları öldürenler)
Yazlık ve kışlık yağlar	Bakterisit (Bakterileri öldürenler)
Granüller	Afisit (Yaprak bitlerini öldürenler)
Peletler	Rodentisit (Kemirgenlerini öldürenler)
Tabletler	Nematisit (Nematodları öldürenler)
Sıvı tohum ilaçlar	Mollusisit (Yumuşakçaları öldürenler)
Aerosoller	Algisit (Algleri öldürenler)
Zehirli yemler	Avisit (Kuşları öldüren)
Kapsül şekli verilmiş formülasyonlar	Repellent (Kaçırıcılar)
Emülsiyon konsantre ilaçlar	Atrakant (Çekiciler)

Tablo 1.2 Pestisitlerin zarar seviyelerine göre sınıflandırılması.

Sınıf	Zarar Seviyesi	Ratlar için LD_{50} mg/kg	
		Oral	**Dermal**
1a	Aşırı Zararlı	<5	<50
1b	Yüksek Zararlı	5-50	50-200
2	Orta Zararlı	50-2000	200-2000
3	Hafif Zararlı	2000+	2000+
U	Çok Hafif	5000 veya daha fazla	

Dünya genelinde pestisitlerin kullanımında yıllık yaklaşık 2 milyon ton ile Çin ilk sırada gelmektedir. Çin'i takiben Amerika Birleşik Devletleri ve Brezilya en çok pestisit kullanan ikinci ve üçüncü ülkelerdir. Avrupa'da ise yaklaşık 70 bin ton ile Fransa en çok pestisit kullanan ülkedir (FAOSTAT, 2020). 2017 yılı pestisit tüketimi açısından Türkiye dünya genelinde en çok pestisit kullanan 12. ülke olmuştur (Tablo 1.3). Türkiye'de kullanılan toplam pestisit miktarı yaklaşık 54 bin ton olup bunun yaklaşık 22 bin tonu fungusit ve bakterisit olarak, yaklaşık 14 bin tonu insektisit ve yaklaşık 12 bin tonu da herbisit olarak kullanılmaktadır (Tablo 1.4) (FAOSTAT, 2020).

Tablo 1.3 Yıllık pestisit tüketiminin ülkelere göre sıralaması (FAOSTAT, 2020).

Sıra	Ülke	Yıl	Miktar (ton)
1	Çin	2017	1773634
2	Amerika Birleşik Devletleri	2017	407779
3	Brezilya	2017	377176
4	Arjantin	2017	196009
5	Kanada	2017	90839
6	Ukrayna	2017	78201
7	Fransa	2017	70589
8	Malezya	2017	67288
9	Avustralya	2017	63416
10	İspanya	2017	60896
11	İtalya	2017	56641
12	Türkiye	2017	54098
13	Hindistan	2017	52750
14	Japonya	2017	52249
15	Almanya	2017	48193

Tablo 1.4 Türkiye'de kullanılan pestisitlerin dağılımı (FAOSTAT, 2020).

Pestisit	Yıl	Miktar (ton)
Pestisit (toplam)	2017	54098
Fungusit ve Bakterisit	2017	22006
İnsektisit	2017	13888
Herbisit	2017	11759
Rodentisit (Kemirgen Öldürücü)	2017	236
Diğer pestisitler	2017	6209

1.1.1 İmazamoksun Kullanım Alanları

İmazamoks Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu tarafından onaylanan ve genel adı 2-(4-isopropyl-4-methyl-5-oxo-4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-5-(methoxymethyl) olan nikotinik asittir (WHO, 2014). Aktif maddesi amonyum tuzu olan imazamoks sıvı formda olup sarımtırak renktedir. Yoğunluğu 1,08 g/cm^3 ve yarılanma ömrü 27-65 gün arasında değişmekte olan bir bileşiktir (Tan vd., 2005; Hamel, 2012). Farklı organik çözücülerde çözünürlüğü heksan 0,0007, metanol 6,75, asetonitril 1,90, toluen 0,22, aseton 3,09, diklormetan 21,8 ve etil asetat 1.05 g/100ml şeklinde olan imazamoksun molekül formülü $C_{15}H_{19}N_3O_4$ şeklindedir.

İmazamoks sistematik bir herbisit olup hayvanlarda ve bitkilerde enzim senteziyle ilerleme gösterir. Bu sebeple çalışmalarda belirli doz ayarlamaları yapılarak uygulanması önerilmektedir (Tan vd., 2005; Pfenning vd., 2008). İmazamoks bir imidazolinone herbisit olup zirai alanlarda bezelye, fasulye, soya, yerfıstığı ve ayçiçeği gibi bitki tarımında horoz ibiği (*Amaranthus albus*), çoban çantası (*Capsella bursa-pastoris*), sirken (*Chenopodium album*), boru çiçeği (*Datura stramonium*), şahtere otu (*Fumaria officinalis*) ve ballıbaba (*Lamium purpureum*) gibi yabancı otlarla mücadelede 4-5 g/da dozunda sıklıkla kullanılmaktadır (URL 1).

Güney Teksas'ta yer fıstığına uygulanan imidazolinone grubu bazı herbisitlerin 3 ayrı yerde, yer fıstığından sonra mısır, pamuk, dane sorgum, karpuz, patates ve susam için kullanımı araştırılmıştır. Bitkilerin kuru madde ağırlıkları üzerinden yapılan değerlendirmede pamuğun imazamoks herbisitine en duyarlı bitki olduğu tespit edilmiştir (Grichar vd., 1999).

1.1.2 Piriproksifenin Kullanım Alanları

Piriproksifen, 2- [1-metil-2- (4-fenoksifenoksi) etoksi] piridin (C20H29NO3) sentetik bir insektisit olup dünya çapında tarım alanında pestisit olarak kullanılmaktadır. Piriproksifen böceklerde jüvenil hormon agonisti olup böcek juvenil hormonuna benzer bir kimyasal yapıya sahiptir. Juvenil hormon reseptörleri için etkin bir şekilde rekabet ederek kimyasal olarak daha baskın etki gösterir (Sullivan ve Goh, 2008). Böcek larvaları, doğal koşullar altında olgunlaşmamış ve olgun dönemler arasında dönüşüm geçirdikleri yaşam aşaması olan pupasyona hazırlandığında juvenil hormon üretimini durdurur ve metamorfoz için gerekli gen ekspresyonu değişmeye başlar. Bununla birlikte eksojen juvenil hormon kaynakları veya analogları olduğunda homeostaz bozulur ve böceklerin gelişimini doğrudan etkiler (Dhadialla vd., 1998). Piriproksifen beyaz sinek, pamuk kurdu, jassid, yaprak biti ve kesici kurtlara karşı tarımsal amaçlı kullanım için tescilli bir pestisit olup İsrail, Güney Afrika, İspanya ve İtalya'da turunçgillerde yaygın olarak kullanılmaktadır (WHO, 2008). Çok sayıda kıyı kentinde halk sağlığında haşere kontrolü için bir larvisit ve böcek ilacı olarak piriproksifen kullanılmaktadır.

1.1.3 Hymeksazolün Kullanım Alanları

Hymeksazol etkili ve yaygın olarak kullanılan bir fungusittir. Geniş spektrumlu bir fungusit olan hymeksazol, Pythium, *Aphanomyces cochlioides* (Payne ve Williams, 1990), fusarium (Myresiotis vd., 2012) ayrıca *Rhizoctonia solani* (Zhongyi vd., 2011) ve *Mortierella* sp. (Tsao ve Guy, 1977) gibi diğer mantar türlerinin de neden olduğu bitki hastalıklarını kontrol etmede etkili olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, şeker pancarı, sebzeler, pirinç ve benzerlerinde fideleri ve çürük kök hastalığını kontrol etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte çevresel toksikolojik değerlendirmesi iyi belgelenmemiştir (Fan vd., 2018). Hymeksazol uygulamaları arasında tohum muamelesi, havadan püskürtme ve doğrudan bitkilerin tabanına uygulama şekilleri yer almaktadır. Uygulamalar sırasında önemli miktarda hymeksazol çevrede ve sucul ortamlarda kaybolduğu bildirilmiştir (Fan vd., 2018).

1.2 Pestisitlerin Sucul Ortam Üzerine Etkileri

Zirai alanlarda müdacele amaçlı kullanılan pestisitler, bitkilerin hastalık ve zararlı canlıların etkilerinden korunmasını sağlayarak ürün miktarını ve kaliteyi arttıran modern tarımın vazgeçilmezi olmuştur. Pestisit kullanımı avantajlarının yanısıra kirlilik ve sağlık açısından da birçok dezavantaja da sahiptir (Kanburoğlu Çebi vd., 2017).

Kirleticiler arasında pestisitler çok önemli bir konumdadır, çünkü pestisitler ve teknik organik kimyasallar en tehlikeli kirletici grubu oluşturur. Bu maddelerin sucul organizmalara tamamen yabancı olduğu anlaşılmıştır. Günümüzde pestisit kullanımı tarımsal ürünler, meralar, ormanlar ve sulak alanlarda yaygındır ve bu şüphesiz birçok canlı türünü kimyasal tehlikelere maruz bırakmıştır. Pek çok pestisitin, işlenmiş alanlarda kalabilmeleri ve böylece etkinliklerinin artması için çevresel bozulmaya dirençli olmaları gerekir. Bu özellik aynı zamanda doğal ekosistemlerde uzun vadeli etkilere sebep olabilmektedir. Bu pestisitlerin ve kimyasalların fazla miktarları, istenmeyen ve gereksiz kalıntılara sebep olmakta ve suda yaşayan organizmalar için büyük bir tehdit oluşturmaktadır (Ramasamy vd., 2007). Ayrıca su kütlelerinin pestisit konsantrasyonu litre başına düzinelerce miligram büyüklüğe ulaşabilmektedir. Sularda pestisit kirliliği seviyeleri şu şekilde sıralanabilir: tarla suyu> tarla hendek suyu> yüzey akışı> gölet suyu> yeraltı suyu> nehir suyu> derin yeraltı suyu> deniz suyu (Lin vd., 2000).

Pestisitler, doğrudan uygulamadan, karasal akıştan veya rüzgar kaynaklı sürüklenmeden sucul ortamlara girme potansiyeline sahiptir. Dünyada binlerce farklı pestisit kullanıldığından, herhangi bir pestisit için sucul kontaminasyona ilişkin veriler genellikle oldukça sınırlıdır. Bununla birlikte, lentik ve lotik sistemlerde yapılan çalışmalar, insektisitler malathion, endosulfan ve diazinon gibi çeşitli pestisitlerin yanı sıra atrazin ve glifosat herbisitleri tespit etmiştir (LeNoir vd., 1999, Hayes vd., 2002; Kolpin vd., 2002; Thompson vd., 2004).

Fiziksel, kimyasal ve biyolojik süreçler, bu maddelerin çevredeki dağılımını ve kaderini etkiler. Bu tür bileşikler yağda çözünürdür ve bu nedenle su, tortu ve besin

kaynaklarından suda yaşayan organizmaların dokularına kolayca alınır (Walker ve Livingstone, 1992; Gil ve Pla, 2001; Farah vd., 2004). Suda çözünmeyen pestisitlerin lipofilik doğası, pestisitler sucul organizma ile temas ettiğinde plazma membranını geçme kabiliyetini arttırır. Yaygın dağılımlarından dolayı, ilişkili organizmalar üzerinde olumsuz etki yarattıkları gözlenmiştir (Singh ve Reddy, 1990).

Su sistemlerinde herbisitlerin ana girdisi, uygulama sırasında veya uygulamadan kısa bir süre sonra dolaylı bir şekilde gerçekleşir. Eliminasyonları ise, çoğunlukla abiyotik (hidroliz, oksidasyon / indirgeme) veya mikroorganizmaların varlığı ve üst toprak katmanında gerçekleşen dağılma süreçleri nedeniyle bozunmalarıyla sınırlıdır. Herbisit ve / veya metabolitleri suya yapay drenaj sistemleri, yüzey veya yüzey altı akışı ve yeraltı suyuna sızma yoluyla ulaşabilir. Ek olarak, sprey sürüklenmesi yüzey suyuna giden ana potansiyel yol olarak da görünmektedir (Batista, 2003; Reichenberger vd., 2007; Marques, 2009).

Herbisitler aşırı püskürtme, yüzey akışı ve hava yoluyla taşıma yoluyla su sistemlerine girebilmektedir. Birçok ülkede yüzey sularında yaygın olarak tespit edilmişlerdir (Zhang vd., 2016a, 2016b). Örneğin, Coupe vd. (2012) uygulamadan sonra % 0,009–0,86 glifosatın yüzey suyuna girdiğini bildirmiştir. Tespit edilen glifosat konsantrasyonlarının, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki akarsularda 8,7 μg L^{-1}, Fransa'da yüzey sularında 75–90 μg L^{-1} ve hatta uygulama mevsiminde Çin'de 10 mg L^{-1} olduğu bildirilmiştir (Battaglin vd., 2005; Botta vd., 2009; Saunders ve Pezeshki, 2015; Zhang vd., 2016a, 2016b).

Geniş bir aralıkta bitkilerin kontrol edilmesini sağlayan ve aktif maddesi amonyum tuz olan imazamoks suda iyi çözünebildiğinden suyun kirlenmesine sebebiyet vermektedir (Hamel, 2012; Akgeyik, 2014). Pyriproxyfen (PPF)'nin ise ortalama lethal konsantrasyonu (LC_{50}), *Pseudomugil signifer* (Brown vd., 1998), gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) ve mavi yüzgeçli güneş balığı (*Lepomis macrochirus*) gibi balıklarda tespit edilmiş olup (WHO, 2006), PPF'nin toksik potensi zebra balığı embriyolarındaki etkili PPF konsantrasyonunun (EC 50) 5,2 μM olduğu tespit edilmiştir (Truong vd., 2016).

Son zamanlarda, PPF'nin nörotoksik potansiyeli, nörodavranışsal testlerle incelenmiş olup, düşük ila orta mikromolar konsantrasyonda, PPF'nin gelişimsel olarak zebra balığı için nörotoksik olduğu tespit edilmiştir (Truong vd., 2016). Buna karşılık, Dzieciolowska vd. (2017), PPF'nin zebra balıklarında merkezi sinir sistemi gelişimini etkilemediğini belirtmişler, fakat PPF'nin nörotransmiterler üzerindeki sınırlı etkisinin olduğunuda bildirmişlerdir.

Hymeksazol'un çevresel toksisitesi ile ilgili araştırmalar sınırlı olup, suda yaşayan organizmalar için toksisite nedeni olarak ATP ile kompleksleşmesiyle ilgili çalışmalar mevcuttur. Sonuçlar, hymeksazolün *Tetrahymena pyriformis*'e olan toksisitesinin, metribuzin, clopyralid, glyphosate ve bentazon dahil olmak üzere test edilen pestisitler arasında en düşük olduğunu göstermiştir (Saratovskikh, 2013). Sazan ve gökkuşağı alabalıklarının hymeksazole 96 saat süre boyunca maruz bırakılması sonucunda balık toksisitesi açısından, LC50 değerlerinin; sazanda 165 mg / L ve gökkuşağı alabalığında ise 460 mg / L olduğu belirtilmiştir (Fan vd., 2018). Zebra balıklarında ise embriyotoksisite testleri sonucunda ise, hymeksazolün 96 saatlik LC50 değerinin 649 mg / L idi ve % 95 güven aralığının 632-667 mg / L olduğu yani bu sonuçların hymeksazolün zebra balıklarında oldukça düşük akut toksisiteye ve düşük embriyotoksisiteye sahip olduğu şeklinde değerlendirilmiştir (Fan vd., 2018).

1.3 Sucul Toksikoloji Deneyleri

Toksikoloji yani zehir bilimi, kimyasallar ile biyolojik sistem arasındaki etkileşimleri, zararlı sonuçları yönünden inceleyen bilim dalıdır. Uygun yol ve dozda alınmayan her madde zehir etkisi yapabilir. Bu etki bir yapı değişikliği şeklinde olabileceği gibi biyokimyasal lezyon şeklinde de olabilir. Ortaya çıkan etki, geri dönüşümlü olabileceği gibi hücre ölümü şeklinde de olabilir (Vural, 1996). Canlı hücreler üzerinde kimyasal maddelere bağlı önemli yapı ve fonksiyon değişikliklerinin saptanması ve yorumlanması amacıyla deneysel toksikolojik çalışmalar yapılmaktadır (Loomis, 1978).

Toksisite testleri, kimyasal maddelerin canlılar üzerine olan etkilerinin belirlenmesi amacının yanında toksik etkilerinin görülmediği konsantrasyon/dozlarının

belirlenmesine de katkı sağlar. Toksik etkinin görülmesi beklenen testlerde, bu etkiyi oluşturduğu bilinen bir kimyasal maddenin, pozitif kontrol grubuna uygulanması ve deneyin sağlıklı işlediğinin test edilmesi de gerekmektedir (Saygı vd., 1991; CPMP, 2000).

Toksikolojik testlerde kullanılan deney hayvanları farklı konsantrasyonlarda toksik maddelerin bulunduğu ortamda tutularak bu maddelerin hayvanlar üzerindeki etkileri araştırılır. Bu araştırmalarda; ölümler, üreme ve denge bozuklukları, gelişme durumları, yüzme yetenekleri, histolojik ve biyokimyasal değişimler ve organların aktiviteleri gibi faktörler incelenir. Testlerde kullanılan materyal tek bir kirletici olabileceği gibi birden fazla madde içeren kompleks bir karışımda olabilir (APHA, 1992; Laufer ve Nation, 1999). Toksik deneylerde aynı özelliklere sahip hayvanlar, farklı miktarlarda toksik maddeye maruz bırakılmaktadır. Toksik madde dışındaki faktörlerin etkilerinin ortadan kaldırılması bakımından testlerde ayrıca kontrol grubu kullanılır. Toksik maddenin belirli miktarlarda çözeltileri kullanılacağı için bu maddenin bir çözücü yardımıyla çözülebilir olması gerekmektedir. Kullanılan bu çözücü maddelerin de toksik etkilerinin dikkate alınması gerekir (EPA, 1993; Ünsal, 1998; Altınok, 2004).

Toksisite testleri, testin süresine, test ortamına toksik madde ilavesine ve amaçlarına göre sınıflandırılmaktadır. Test sürelerine göre yapılan sınıflandırmada testler, akut ve kronik olmak üzere iki şekilde gruplandırılır. Akut toksikolojik testler, deney süresi 24, 48, 72 ve 96 saatlik zaman dilimleri kullanılarak yapılmaktadır. Deney süresi, deneyde kullanılacak canlı türüne göre de değişiklik göstermektedir. Deney süresi boyunca kullanılan organizmanın büyüme ve gelişimi de göz önünde bulundurulmalıdır. Kronik testlerde deney süresi bir haftadan bir aya kadar olabilir veya daha uzun süreler de kullanılabilir. Bu test türünde genellikle farklı toksik madde miktarlarının organizmaların üreme ve gelişmeleri üzerine etkileri incelenmektedir (FAO, 1987; Ünsal, 1998).

Toksikolojik testler, deney ortamına kirletici ilavesine göre statik, yarı statik ve sürekli akış sistemli olacak şekilde üç gruba ayrılmaktadır. Statik testlerde deneye tabi tutulacak organizmalar uygun bir düzenek içerisinde hazırlanmış deney ortamına

konur ve deney süresi boyunca herhangi bir değişiklik yapılmaz. Bu deneylerde metabolizma sonucu oluşan atıkların su kalitesinde meydana getireceği olumsuzlukları gidermek amacıyla genellikle 96 saatlik süre tercih edilmektedir. Yarı statik toksik testlerde, deney ortamı belirli zaman aralıklarıyla yenilenmekte olup, bu zaman aralıkları toksik madde ve deneyde kullanılan organizma türüne göre değişmektedir. Bu test türünde genellikle farklı zaman dilimleri tercih edilmektedir. Bu sayede, statik testlerde metabolizma atıkları ve diğer bazı nedenlerden kaynaklanan su kalitesindeki değişimlerin olumsuz etkileri ortadan kaldırılmış olur. Sürekli akış sistemli testlerde ise, deney ortamı devamlı olarak yenilenir ve deney süresince su kalitesinde metabolizma atıkları nedeniyle herhangi bir değişiklik meydana gelmez. Bu testler kısa süreli toksik deneyler için tercih edilmekle birlikte, doğal ortam şartlarını en iyi şekilde temsil etmektedir (FAO, 1987; Ünsal, 1998).

Toksisite deneyleri, toksik maddelerin zararlı etkilerini ve su kalitesini belirlemede, atıkları ve bu atıkların boşaltıldığı alanları izlemede, gıda zincirinin üst seviyesindeki canlıları korumada, insanlar tarafından tüketilen su ürünlerinin sağlık açısından zararlı olup olmadıklarını belirlemede, toksik maddelerin organizmalar üzerindeki uyarıcı etkilerini ve biyolojik birikimini gözlemlemede kullanılmaktadır. Ayrıca, farklı toksik maddelerin canlı organizmalara olan etkilerini karşılaştırmak ve bu toksik maddelere karşı tepkilerini ölçmek amacıyla da bu testler yaygın olarak kullanılmaktadır (Nowak, 1992; Arnold vd., 1996; Braunbeck ve Appelbaum, 1999; Klauning, 2000; Leblond vd., 2001).

1.4 Toksikolojik Testlerde Su Kalitesi

Toksisite testlerinde organizmaların maruz bırakıldığı ortamın (suyun) yerleşim yerlerinden ve tarımsal alanlardan uzak, sanayi atık sularından etkilenmeyen, yüzey veya kaynak suları olması gerekmektedir. Toksikolojik deneylerdeki suların kalite parametrelerinin önceden belirlenmiş olması gerekmektedir. Ayrıca bu parametrelerin belirlenmesinde kullanılacak canlı türünün de göz önünde bulundurulması gerekir. Deney boyunca balıklarda kullanılan suyun sıcaklığında meydana gelen değişikliklerin ±2oC'yi geçmemesi ve çözünmüş oksijen miktarının 4 mg/L'nin altında olmaması gerekmektedir (FAO, 1981; APHA, 1992; EPA, 1993; Uguz vd.,

2003). Toksikolojik çalışmalarda kullanılacak suların özellikleri Tablo 1.5'te belirtilmiştir (FAO, 1981; FAO, 1982; APHA, 1992).

Tablo 1.5 Akut toksikolojik deneylerde kullanılacak suların özellikleri.

Parametre	**Sınır Değerleri**
pH	6-9
Çözünmüş Oksijen	Soğuk su balıkları için ≥ 6 mg/L Ilık su balıkları için ≥ 4 mg/L
Sıcaklık	Soğuk su balıkları için 12-15 ^{o}C Ilık su balıkları için 20-25 ^{o}C
Toplam Sertlik	40-200 mg/L ($CaCO_3$)
Amonyak	< 20 µg/L

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Sucul canlılar arasında hem ekonomik hem de ekolojik öneme sahip balıklar zehirli kimyasal maddelerin etkilerini belirlemede kullanılan en uygun organizmalardan bir tanesidir. Yapılan toksikolojik testlerde kimyasal maddelerin akut lethal toksisite testlerinin yanında düşük konsantrasyonlarının da etkilerinin belirlendiği subletal toksisite çalışmaları da sıklıkla yürütülmektedir (Altinok ve Capkin, 2007; Capkin ve Altinok, 2013). Bu amaçla toksik etki mekanizmasının daha iyi anlaşılabilmesi için bu testlerin yanında toksik maddelerin biyokimyasal, histopatolojik ve genotoksik etkilerinin de belirlenmesi önem arz etmektedir. (Arellano vd., 1999). Kirletici maddelerin sucul canlılara olan biyokimyasal ve histopatolojik etkileri konusunda çok sayıda araştırma yapılmasına rağmen genotoksik çalışmalar son yıllarda yapılmaya başlanmıştır. (Boran ve Şaffak, 2018; Boran ve Terzi, 2019; Boran ve Ulutas, 2016).

Zirai alanlarda yabancı otların kontrolünde sıklıkla kulanılan çoğu herbisit genelde akut olarak balıklar için toksik ollmadığı bildirilmesine rağmen bu pestisitlerin subletal konsantrasyonlarının balıklarda ters etkilere sahip oldukları bildirilmiştir (Jin vd., 2018). Örneğin, istenmeyen otların kontrol edilmesinde kullanılan bir pestisit olan atrazin Atlantik salmonunda (*Salmo salar*) ve gökkuşağı alabalığında endokrin bozucu olduğu bildirilmiştir (Nieves-Puigdoller vd., 2007; Salaberria vd., 2009). Ayrıca Chang vd. (2013) Zebra balıklarının (*Danio rerio*) çeltik tarlalarında sıklıkla kıullanılan butaklora maruz bırakılması ile yine endokrin bozukluğu görüldüğünü bildirmiştir.

Triklorfon gibi selektif organofosfatlı insektisitler ise çeşitli parazitik enfestasyonlarda kullanılan asetilkolinesteraz inhibitörüdür. Bu insektisitlerin geniş alanlarda kullanımları sonucunda hem kamu hem de çevresel sağlık açısından ciddi problemler oluşturduğu bildirilmiştir (Tonguthai, 1996; Graslund ve Bengtsson, 2001).

Pestisitlerin doğadaki konsantrasyonları çok nadiren öldürücü olabilmektdir. Bu pestisitlerin risk değerlendirmeleri ve sucul ekosistemlerdeki uzun dönem kirleticilik etkileri ekotoksisite testleri ile belirlenebilmektdir. Bu bağlamda, çok düşük konsantrasyonlarda dahi pestisitlerin etkilerinin belirlenebilmesi için sublethal

konsatrayonlar kullanılarak toksisite testleri yapılmaktadır. Ayrıca, kimyasalların spesifik etki mekanizmalarının dolayı organizmalar da farklı derecede etkilenebilmektedir (Coelho vd., 2011).

Salbedo vd. 2020 thiamethoxam içeren ticari insektisitin subletal konsantrasyonlarına (1,125 ve 3,750 µg/l) maruz bırakılan gümüş kedi balıklarında (*Rhamdia quelen*) plazmakortizol seviyelerinde kontrol grubuna kıyasla 24 saatte önemli artışlar tespit etmişler ve balıkların hematolojik, biyokimyasal ve metabolik profillerinde değişiklikler tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Fan vd. (2018) hymeksazol fungusitinin zebra balığı embriyolarıyla ilgili yapmış oldukları çalışmalarında *Danio rerio* için 96 saatlik LC_{50} değerini 648,55 mg/L olarak hesapladıklarını bildirmişler ve bu fungusitin kalp atışını azalttığını ve serbest yüzmeyi arttırdığını bildirirken hymeksazolun oldukça düşük akut ve embriyotoksisiteye sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

Raibeemol ve Chitra (2020) ise klorprifozun subletal konsantrasyonlarının ciklit balıklarında (*Pseudetroplus maculatus*) histolojik değişimlerini araştırmışlar ve karaciğerde nekroz, vakualizasyon, hepatosit ve stoplazmik dejenerasyon tespit ederlerken böbrekte ise vakuol, nekroz ve renal tubul ve glomerulusta kopma(kırılma) tespit etmişlerdir. Ayrıca bu etkilerin zamana ve konsantrasyona bağlı olarak arttıklarını rapor etmişlerdir.

Dünya genelnde en fazla kullanılar insektisitlerde birisi olan cypermetrinin bir dafnia türü olan *Simocephalus vetulus* üzerine subletal etkilerini araştırıldığı bir çalışmada ve pestisitin fekonditeyi ve üremeyi azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca bu canlıların doğada bu insektisite maruz kalmaları ile toksik etki oluşabileceği ve ortamın omurgasız fauna yapısını değiştirebileceği rapor edilmiştir (Arias vd., 2020).

Américo-Pinheiro vd. (2020) nil tilapya balıklarını (*Oreochromis niloticus*) karbofuran pestisitinin subletal konsantrasyonlarına (4,4; 8,8; 44 ve 88 µg/L) 7 gün boyunca maruz bıraktıkları çalışmalarında balıkların solungaç, karaciğer ve böbrek dokularından örnekler almışlardır. Alınan örneklerde yapılan histolojik belirlemelerde solungaçların 0,0044 mg/L konsantrsyonda lamellalarda ayrılma (bozulma) ve epitel

hücrelerinde artış tespit ederlerken daha yüksek konsatrasyonlarda ise sekonder lamellalarda kanlanma gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Karaciğer örneklerinde ise tüm konsantrasyonlarda hipertropi ve nekrozlar tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Karbofuranın subletal konsantrasyonlarına maruz bırakılan balıkların böbreklerinde ise glomerular kapsül, proksimal ve distal tubullerde nekroz ve hücreler arası boşluklarda kaybolmalar tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Sucul ortamlarda 0,0044 mg/L konsantrasyonda karbofuranın varlığı ve 7 günden daha fazla bu konsantrasyona maruziyet balıkların solungaç, karaciğer ve böbrek histolojilerinde değişikliklere sebep olduğunu ve sonuç olarak balık sağlığını tehlikeye düşürebilecğini bildirmişlerir.

Moura ve Souza-Santos (2020) piriproksifenin hedef dışı sucul organizmalar üzerine çevesel risk belirlemesini değerlendirmişler ve ispanyadaki Jucar Nehir suyunda yüksek konsantrasyonlarda bu pestisitin tespit edildiğini, sucul ortamlarda tespit edilen konsantrasyonlarının *Daphnia magna* için yüksek risk oluşturduğunu, pilati (*Xiphophorus maculatus*) balıklarının düşük konsantrasyonlarda bile etkilenebileceğini belirtirken larvisit olarak kullanımı için izin verilen konsantrasyonlarda türlerin %25,82 isini etkilediğini bildirmişlerdir.

Jin vd. (2018) *Hypomesus transpacificus* balık türü üzerine penoksulam, imazamoks, fluridon ve glifosfat herbisitlerinin subletal etkilerini araştırdıkları çalımalarında fluridon ve glifosfatın karaciğerdeki glutathion konsantrasyonunu düşürdüğünü belirtirlerken penoksulam, imazamoks ve fluridonun beyin asetilkolinesteraz aktivitesini inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

Sauders vd. (2019) triazol fungusit olan propikonazolün zebra balıkları (*Danio rerio*) embriyo ve larvalarına subletal etkilerini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada embriyolar 1-100 µM konsantrayona maruz bırakılırken embriyoların hayatta kalmalarını etkilemediğini ve deformasyon olarak da önemli değişiklikler olmadığını bildirmişlerdir. Verilen konsantrasyonlarda diğer triazol fungusitleri gibi balıkların erken yaşam döngülerinde düşük toksisite riski olduğunu bildirmişleridir.

Ismail vd. (2018) sucul canlılarda özelikle balıklarda toksikolojik etkilere sebep olan bir orhanofosfatlı insektisit olan klorprifoza maruz bırakılan rohu balıklarında (*Labeo rohita*) genotoksik ve hematolojik etkileri araştırmışlardır. Balıklar LC_{50} değerinin altındaki subletal konsantrasyonlara 96 saat boyunca maruz bırakmışlar ve her 24 satte bir örnek almışlardır. Alınan örnekerde aynı konsantrasyonın farklı zamanlarda farklı etkilere sebep olduklarını bildirmişlerdir.

D'Costa vd. (2018) Zebra balıklarında (*Danio rerio*) organofosfatlı bir pestisit olan monokrotofozun DNA hasarı üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmlarında balıkları 0,125, 0,625 ve 1,25 µl/l konsantrasyonlarına 72 saat boyunca maruz bırakmışlar ve her 24 saatte bir kan örneklemesi gerçekleştirmişlerdir. Maruz bıraklılan konsantrasyon arttıkça DNA hasarının da arttığını bildirmişlerdir.

Pandey vd. (2018) yürüttükleri çalışmada yılanbaş balıkları (*Channa punctatus*) üzerine profenofozun subletal konsantrasyonunun genotoksik etkilerini yarı statik sistemde Comet assay kullanarak değerlendirmişler ve 1,16 µg/L (LC_{50}'nin yarısı) konsantrasyonda DNA hasarı tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca, pestisitlerin sucul canlılara genotoksik etkilerinin varlığını rapor etmişlerdir.

Nataraj vd. (2017) rohu balıkları ile yaptıkları çalışmalarında profenofoz pestisititin genotoksik ve histopatolojik etkilerini araştırmışlar. Balıkları LC_{50} değerinin beşte biri (0,02 mg/L) ve onda biri (0,01 mg/L) profenofoz konsantrasyonlarına 21 gün boyunca maruz bırakmışlar ve comet assay testinde eritrositlerde DNA hasarının konsantrasyon ve zamana bağlı artış gösterdiğini bildirmişleridr. Ayrıca yapmış oldukları histopatolojik değerlendirmelerde solungaç dokusunda epitel nokroz, lamellar füzyon, epitel doku ayrılması gibi önemli değişiklikler tespit etmişlerdir. Karaciğerde ise piknotik nükleus, vakuolasyon, nükleer dejenerasyon ve hücresel ödem tespit ederlerken böbrek dokusunda tubuler nekroz, renal tubullerde boşluk ve piknotik nükleus tespit etmişlerdir.

Ülkemizde kimyasal maddelerin sucul canlılar üzerindeki olumsuz etkilerinin belirlenmesi ile ilgili yapılan çalışmalar çoğunlukla pestisitlerin dokulardaki kalıntıları ve akut toksik deneylerle LC_{50} değerini belirlemeye yöneliktir. Pestisitlerin balıklar

üzerine biyokimyasal, histopatolojik ve genotoksik etkileri ile ilgili yapılan çalışmalar çok azdır. Yapılan literatür taramasında piriproksifen, imazamoks ve hymeksazol gibi pestisitlerin gökkuşağı alabalıklarında histopatolojik, biyokimyasal ve genotoksik etkileri üzerinde yapılmış herhangi bir bilimsel çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada yaygın olarak kullanılan pestisitlerden piriproksifen, imazamoks ve hymeksazol pestisitlerinin subletal konsantrasyonlarının a) gökkuşağı alabalıkları üzerine olan biyokimyasal etkilerinin belirlenmesi, b) bu pestisitlerin balıkların solungaç, karaciğer, dalak ve böbrek dokularında oluşturduğu histopatolojik değişimlerin incelenmesi c) eritrositlerdeki DNA hasarının Comet Assay Testi kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Pestisitler

Toksisite denemelerinde pestisitlerden insektisit piriproksifen (2-[1-Methyl-2-(4-phenoxyphenoxy)ethoxy]pyridine; Platform 10EC; 100 g/L), herbisit imazamoks (2-(4-Isopropyl-4-methyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl)-5-methoxymethylnicotinic acid; Ramox Ultra; 40 g/L) ve fungusit hymeksazol (3-Hydroxy-5-methylisoxazole; Tagiant 30L; 360 g/L) kullanılmıştır. Pestisitler Safa Tarım A.Ş. Konya Türkiye'den temin edilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Çalışmalarda kullanılan pestisitler. A: Piriproksifen; B: İmazamoks; C: Hymeksazol

3.1.2 Deneme Balıkları

Bu çalışmada deney hayvanı olarak hem ülkemizde hem de dünyada laboratuvar denemelerine uyum kabiliyeti yüksek, yetiştirilebilen ve dolayısıyla temini kolay, geniş duyarlılığa sahip ve ekosistemi iyi derecede temsil etme kabiliyetine sahip

gökkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) kullanılmıştır. Denemelerde 210 adet gökkuşağı alabalığı (90,50±9,44 g; 20,34±0,95 cm) Kastamonu Üniversitesi İç Su ve Deniz Balıkları Üretim, Uygulama ve Araştırma Merkezi'nin Germeçtepe Barajı'ndaki üretim tesisinden temin edilmiştir. Toksisite testlerine başlamadan önce laboratuvar koşullarına adapte olmaları için iki hafta boyunca Su Ürünleri Fakültesi Akuatik Toksikoloji Ünitesi'ndeki 100 L'lik akvaryumlarda tutulmuştur. Adaptasyon aşamasında kapalı devre sistemin suyunun her gün %15-20'si değiştirilmiştir. Balıklar laboratuar koşullarına uyum sağlaması aşamasında vücut ağırlığının %3-5'i oranında alabalık yemiyle beslenmiştir. Balıklar denemelerin başlangıcının 2 gün öncesine kadar beslenmiş ve deneme esnasında balıklar yemlenmemiştir (OECD, 1992). Çalışmaya başlamadan önce Kastamonu Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından izin alınmıştır.

3.1.3 Deneme Yeri ve Deney Sistemi

Deneme, Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akuatik Toksikoloji Ünitesi'nde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.2). Araştırmada kullanılan akvaryumlar 100 L kapasiteye sahip olup deney aşamasında her akvaryuma 80 L su olacak şekilde ayarlanmış toplam 21 adet akvaryum kullanılmıştır. Akvaryumların sularının oksijenlenmesi için blower vasıtasıyla her bir akvaryum ayrı ayrı havalandırılmıştır.



Şekil 3.2 Çalışmada kullanılan 100 litrelik deneme sistemi

3.2 Yöntem

3.2.1 Test Suyu Kalitesinin Belirlenmesi

Toksikolojik testlerde dinlendirilmiş şebeke suyu kullanılmıştır. Denemelerde kullanılan suyun özelliklerini belirlemek amacıyla su sıcaklığı, pH, çözünmüş oksijen, TDS, elektriksel iletkenlik ve tuzluluk Hach Lange marka HQ40D model çoklu su kalitesi ölçüm cihazı ile ölçülmüştür. Deneme boyunca akvaryumlarda ölçülen su kalite parametrelerinden su sıcaklığı 15,3±0,3 °C, pH 7,95±0,28, çözünmüş oksijen 7,02±1,06 mg/L, TDS 253,6±45 mg/L, elektriksel iletkenlik 437,4±70,8 µS/cm ve tuzluluk ‰ 0,25±0,05 olarak ölçülmüştür.

3.2.2 Toksikolojik Testlerin Yapılışı

Adaptasyon periyodundan sonra balıklar denemeye alınmadan önce vücutlarında dış paraziter muauyene yapılarak parazit bulunup bulunmadığı kontrol edilmiştir (AFS-FHS, 2003). Ardından balıklar 100 L lik akvaryumlarda içinde 80 L statik su içeren akvaryumlara alınmıştır. Balıkların test sularına piriproksifen için 150 ve 300 µg/L; imazamoks için 50 ve 100 mg/L; hymeksazol için ise 150 ve 300 mg/L pestisit konsantrasyonu olacak şekilde pestisitlerin subletal konsantrasyonları eklenmiştir. Her akvaryuma 10'ar adet balık koyulmuştur. Her pestisit ve deneme grubu için 3 tekerrür yapılmıştır. Aynı zamanda su kalitesinden ya da başka faktörlerden meydana gelebilecek olası etkileri belirlemek amacıyla da kontrol grubu oluşturulmuştur. Deneme süresi boyunca test sularının % 50'si dinlendirilmiş taze su ile değiştirilmiş ve konsantrasyon değişmeyecek şekilde pestisit eklenerek konsantrasyon tekrar ayarlanmıştır. Akvaryumlardaki sular 96 saat boyunca havalandırılarak oksijenlenmesi sağlanmıştır.

3.2.3 Biyokimyasal Parametrelerin Analizi

Biyokimyasal analizler için kan örnekleri imazamoks, hymeksazol ve piriproksifen pestisitlerine maruziyetin 48 ve 96. saatlerinde MS-222 (tricaine methane sulphonate, 200 mg/L) anestezi altında kaudal venadan enjektör yardımıyla 1 ml olacak şekilde heparinli tüplere toplanmıştır. Biyokimyasal analiz için kan örnekleri 5000 xg hızda

10 dk santrifüj edildikten sonra plazmalar elde edilmiş ve analiz zamanına kadar -70 °C de saklanmıştır. Daha sonra alanin aminotransferaz (ALT), kolesterol, kreatinin, alkalen fosfataz (ALP), trigliserid (TRIG), toplam protein (TPRO), glukoz ve albümin gibi biyokimyasal parametreler Abbott (ABD) marka diagnostik kitleri kullanılarak immunoserolojik analiz cihazında (Abbott Architect® c16000 System ABD) ölçülmüştür.

3.2.4 Histopatolojik İncelemeler

İmazamoks, piriproksifen ve hymeksazol pestisitlerinin subletal konsantrasyonlarına maruz bırakılan ve bırakılmayan (kontrol) balıkların karaciğer, arka böbrek, solungaç ve dalak dokularında meydana gelebilecek olası histopatolojik etkileri değerlendirmek amacıyla 30 adet gökkuşağı alabalığı kullanılmıştır. Bu amaçla 48 ve 96 saat süreyle pestisitlere maruz bırakılan balıkların dokuları 48 saat boyunca % 10 tamponlu formalin çözeltisine sabitlendi ve devamında % 70'lik alkolde yıkanmıştır. Daha sonra dokular % 70'lik alkolde 24 saat, % 80'lik ve %96'lık alkolde 1'er saat, absolute alkolde ise 2 saat bekletildikten sonra metil benzoat ve benzol serilerinden geçirilip paraplastta bloklanmıştır. Her bir parafin bloktan mikrotom (Leica RM 2155, Germany) yardımıyla 50 µm aralıklarla 5 µm kalınlığında 3'er adet kesitler alınmıştır. Histopatolojik değerlendirilme için kesitlere hematoksilen-eozin (H&E) boyaması yapılmıştır. Kesitler ışık mikroskobu (BX51, Olympus, Tokyo, Japan) altında değerlendirilip istenilen bölgelerden mikroskoba entegre digital kamerayla (DP74, Olympus, Tokyo, Japan) görüntüler alınmıştır. Tüm örneklerdeki histopatolojik bulgular lezyonların şiddeti ve doku dağılımı açısından değerlendirilmiştir (yok: -, hafif: +, orta: ++, şiddetli: +++).

3.2.5 DNA Hasarının Belirlenmesi (Comet Assay)

Pestisitlerin subletal konsantrasyonlarına 96 saat boyunca maruz bırakılan gökkkuşağı alabalıklarından 96. saatin sonunda balıklardan 0,5 ml alınan kan örnekleri alınmıştır. Comet Assay testi Singh vd. (1988)'in tekniği modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Alınan kan örneklerinden 10 µl kan PBS ile homojenize edilerek hücre süspansiyonu hazırlanmıştır (100 hücre/ml). 10 µl hücre süspansiyonu 75 µl %0,5'lik LMP (Low

Melting Point-düşek erime ısılı) agaroz ile karıştırılmıştır (LMP agaroz 37°C'de bekletilerek kullanılmıştır). Daha sonra rodajlı lamların ilk aşamada %1'lik NMP (normal erime ısılı) agaroz ile yüzeyleri kaplandıktan sonra üzeri lamel ile kapatılmış ve 20 dk buzdolabında (+4°C) sertleşmesi için bekletilmiştir. Daha sonra ikinci tabaka olarak hazırlanmış hücre süspansiyonu ve LMP karışımından 75 µl kullanılarak ikinci tabaka oluşturulmuş ve üzeri lamelle kapatılmıştır. Bu işlemden sonra bir saat süreyle agarozun donması beklenmiştir. Üçüncü tabakada örnekler sadece 75 µL %0,5 LMP agarozla kaplanmış ve yine üzeri lamelle kapatılarak agarozun donması beklenmiştir. Hazırlanan slaytlar daha önce hazırlanmış ve +4°C'de bekletilen lizis solüsyonu içerisinde (2,5 M NaCl, 100 mM Na_2EDTA, 10 mM Tris, pH 10, %10 DMSO ve %1 Triton X-100) en az 1 saat karanlık ortamda bekletilmiştir. Slaytlar yan yana elektroforeze yerleştirilmiş ve +4°C'de 30 dakika sıcaklık dengelenmesi için bekletilmiştir. Hazırlanan örnekler 30 dakika (24 V, 300 mA) +4°C'de elektroforezde yürütülmüştür. Yürütme işleminden sonra slaytlar nötralize buffer içerisinde 10 dakika bekletilmiş ve 0,5 mg/mL konsantrasyonunda Etidium Bromür ile boyanmıştır. Pozitif kontrol için hidrojen peroksit (H_2O_2) kullanılmıştır. Ardından boyanan slaytlar floresan mikroskop altında filtreler kullanarak görüntülenmiş ve görüntüler Comet Assay programı (OpenComet v1.3.1) ve ImageJ Programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

3.2.6 İstatistiksel Analizler

Tüm veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile ve varyansların homojenliği ise Levene Testi ile incelenmiştir. Comet Assay testinde kontrol grubuna göre pestisite maruz bırakılan grupların verilerinin karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) gerçekleştirilmiştir. Önemli farklılıklar tespit edilmdiğinde bu farklılıkların belirlenmesinde TUKEY testi uygulanmıştır. Comet assay analizleri comet assay programı (OpenComet v1.3.1) ve ImageJ Programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Tüm istatistik analizleri SigmaPlot 12.3 paket programı kullanılarak yapılmış ve önem seviyesi %5 olarak ayarlanmıştır.

4. BULGULAR

4.1 Biyokimyasal Parametreler

Piriproksifen, hymeksazol ve imazamoksun farklı subletal konsantrasonlarına maruz bırakılan gökkuşağı alabalıklarının kan biyokimya parametrelerinde meydana gelen değişimler sırasıyla Tablo 4.1, Tablo 4.2 ve Tablo 4.3'te verilmiştir. Piriproksifenin 300 µg/L konsantrasyonuna maruz bırakılan balıklarda 48. saatte alınan kan örneklerindeki kolesterol ve toplam protein seviyeleri kontrol grubu ve 150 µg/L konsantrasyondan farklı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). 96. saate ise yine aynı parametreler her iki konsantrasyonda da kontrol grubundan farklı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Tablo 4.1 Piriproksifenin farklı subletal konsantrasyonlarının gökkuşağı alabalıklarında biyokimyasal parametrelere etkisi (ort±standart sapma).

Parametre	48. Saat			96. Saat		
	Kontrol	**150 µg/L**	**300 µg/L**	**Kontrol**	**150 µg/L**	**300 µg/L**
ALT (U/L)	17,50±2,12	20,83±0,76	25,33±4,51	15,50±0,71^{y}	26,33±2,08^{x}	16,67±3,06^{y}
Kolesterol (mg/dL)	168±4,24^{b}	142,3±4,93^{b}	226±20,42^{a}	193,5±0,71^{x}	157±2,65^{y}	96,67±36,5^{y}
Kreatinin (mg/dL)	0,33±0,01	0,31±0,07	0,25±0,01	0,36±0,03	0,30±0,09	0,23±0,03
ALP (U/L)	31±1,41	41,33±12,86	62±12,53	43,5±3,54^{x}	43,00±9,17^{x}	19,67±8,33^{y}
Trigliserid (mg/dL)	169±16,97	106±26,15	238,3±91,27	219,5±20,51^{x}	108,3±16,2^{y}	104,0±6,08^{y}
Top. Prot. (g/dL)	2,7±0,28^{b}	2,60±0,26^{b}	3,40±0,3^{a}	3,35±0,07^{x}	3,03±0,23^{x}	2,17±0,35^{y}
Glukoz (mg/dL)	54,5±2,12	48,33±6,43	51,33±3,51	65±5,66	60,33±7,57	60,33±9,07
Albumin (g/dL)	0,95±0,07	0,97±0,12	1,30±0,2	1,15±0,21	1,17±0,35	0,53±0,15

Küçük üstel ifadeler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder ($P<0,05$).

Hymeksazolün 150 ve 300 mg/L subletal konsantrasyonlarına maruz bırakılan balıklarda 48. saatte alınan kan örneklerindeki trigliserid ve glukoz seviyeleri kontrol grubuna kıyasla farklı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). 96. saatte ise glukoz değeri300 mg/L konsantrasyonda kontrol grubundan farklı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Tablo 4.2 Hymeksazolün farklı subletal konsantrasyonlarının gökkuşağı alabalıklarında biyokimyasal parametrelere etkisi (ort±standart sapma).

Parametre	**48. Saat**			**96. Saat**		
	Kontrol	**150 mg/L**	**300 mg/L**	**Kontrol**	**150 mg/L**	**300 mg/L**
ALT (U/L)	17,50±2,12	16,33±5,69	17,33±3,79	15,50±0,71y	18,67±4,04y	56,67±3,21x
Kolesterol (mg/dL)	168±4,24	165,7±51,93	202±41,58	193,5±0,71^{x}	173±48,75^{xz}	95,67±7,02^{yz}
Kreatinin (mg/dL)	0,33±0,01	0,28±0,07	0,27±0,04	0,36±0,03^{x}	0,29±0,03^{xz}	0,25±0,02^{yz}
ALP (U/L)	31±1,41	32,67±5,69	40,67±9,24	43,5±3,54	47±15,39	47,33±3,79
Trigliserid (mg/dL)	169±16,97^{b}	103±14,80^{c}	470±17,44^{a}	219,5±20,51	172,67±84,39	84,33±12,10
Top. Prot. (g/dL)	2,7±0,28	2,97±0,32	3,03±0,29	3,35±0,07	2,73±0,74	1,97±0,15
Glukoz (mg/dL)	54,5±2,12^{c}	71,00±7,94^{b}	90,33±1,53^{a}	65±5,66^{y}	65,00±7,81^{y}	104,33±2,52^{x}
Albumin (g/dL)	0,95±0,07	0,97±0,15	1,20±0,17	1,15±0,21	0,73±0,49	0,57±0,12

Küçük üstel ifadeler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder ($P<0,05$).

İmazamoksun 100 mg/L subletal konsantrasyonuna maruz bırakılan balıklarda 48. saatte alınan kan örneklerindeki kolesterol, ALP, trigliserid, toplam protein ve glukoz seviyeleri kontrol grubuna kıyasla farklı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). 96. saate ise kolesterol, kreatinin, ALP ve trigliserid seviyeleri 100 mg/L konsantrasyonda kontrol grubundan farklı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

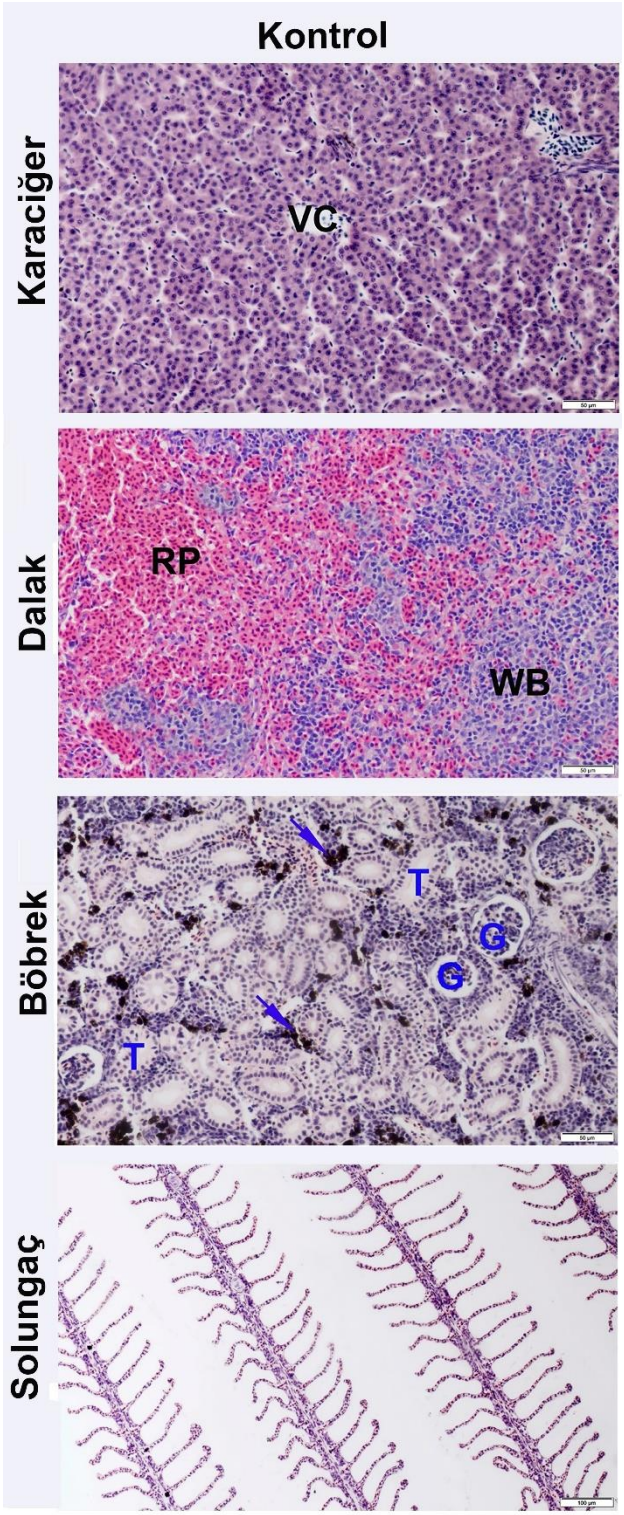
Tablo 4.3 İmazamoksun farklı subletal konsantrasyonlarının gökkuşağı alabalıklarında biyokimyasal parametrelere etkisi (ort±standart sapma).

Parametre	48. Saat			96. Saat		
	Kontrol	**50 mg/L**	**100 mg/L**	**Kontrol**	**50 mg/L**	**100 mg/L**
ALT (U/L)	17,50±2,12^{b}	54,33±8,14^{a}	20±1,00^{b}	15,50±0,71^{y}	36,67±5,77^{x}	14,33±3,21^{y}
Kolesterol (mg/dL)	168±4,24^{a}	129,3±17,1^{a}	68,67±12,22^{b}	193,5±0,71^{x}	137,67±8,96^{y}	65±12,53^{z}
Kreatinin (mg/dL)	0,33±0,01	0,39±0,10	0,37±0,04	0,36±0,03^{x}	0,22±0,02^{y}	0,21±0,02^{y}
ALP (U/L)	31±1,41^{b}	58±3,61^{a}	53,67±3,21^{a}	43,5±3,54^{x}	42±1,73^{x}	21,33±2,08^{y}
Trigliserid (mg/dL)	169±16,97^{a}	114±8,72^{b}	55,67±8,96^{c}	219,5±20,51^{x}	162±5,29^{y}	79,67±5,51^{z}
Top. Prot. (g/dL)	2,7±0,28^{a}	2,93±0,25^{a}	1,93±0,15^{b}	3,35±0,07	2,88±0,03	2,57±0,72
Glukoz (mg/dL)	54,5±2,12^{a}	40±6,24^{b}	39,67±4,16^{b}	65±5,66	46,33±8,96	52,33±10,02
Albumin (g/dL)	0,95±0,07	0,80±0,30	0,50±0,10	1,15±0,21	1,00±0,00	0,63±0,32

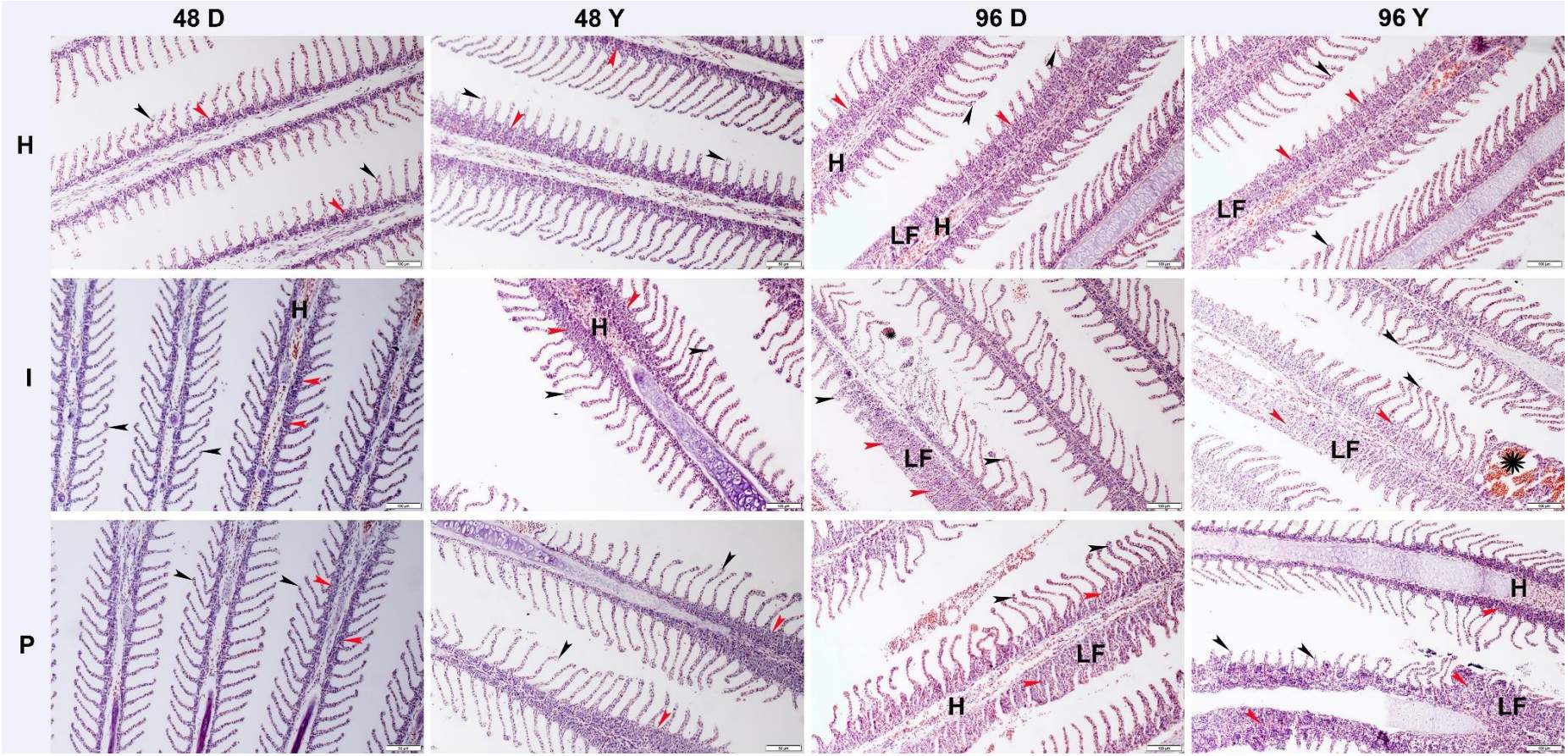
Küçük üstel ifadeler grupların aynı örnekleme günü kendi aralarındaki farklılığı ifade eder ($P<0,05$).

4.2 Histopatoloji Bulguları

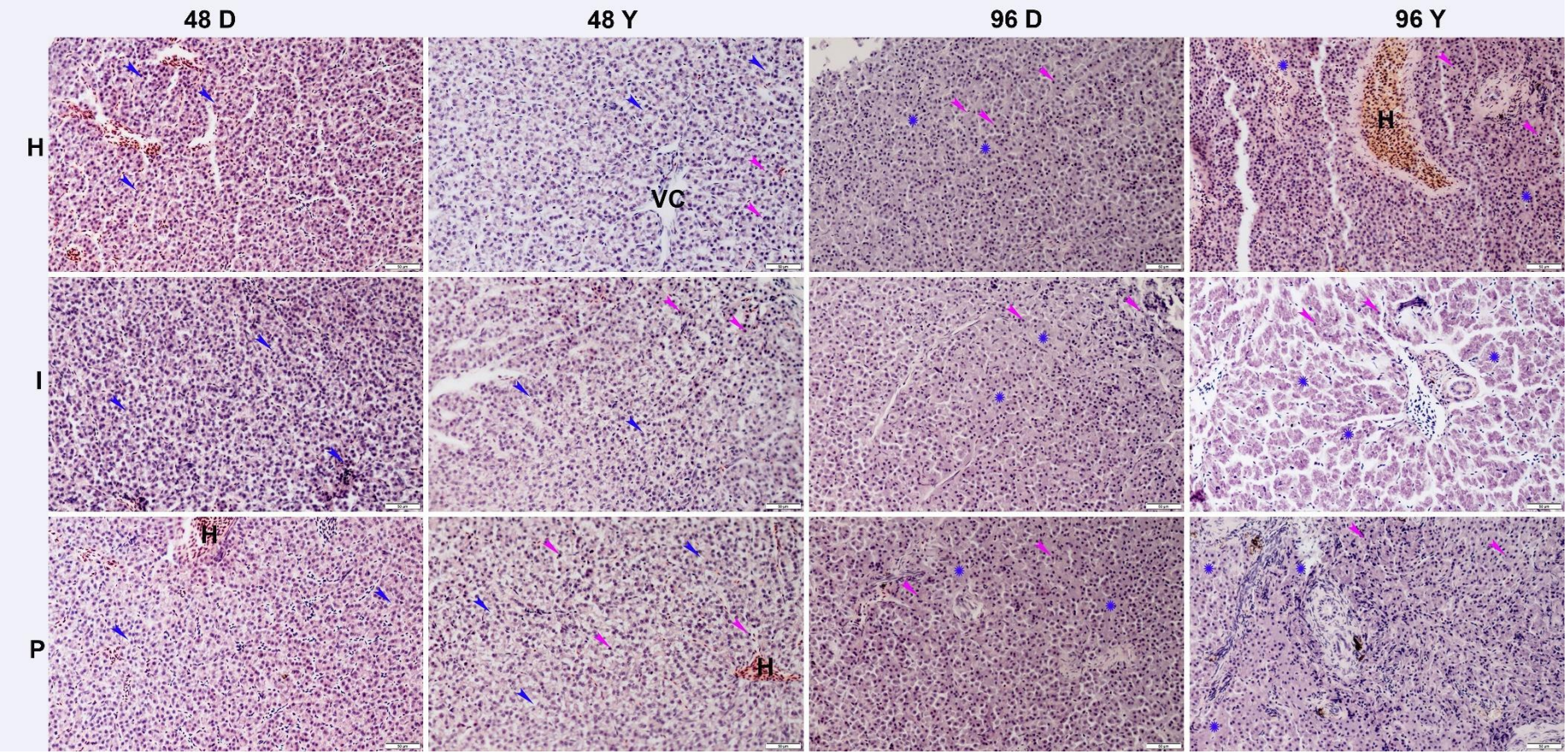
Gökkuşağı alablalıklarının hiçbir pestisite maruz bırakılmayan kontrol gruplarından alınan solugaç, karaciğer, böbrek ve dalak dokuları histopatolojik olarak incelendiğinde dalak dokusunun beyaz ve kırmızı pulpa alanlarının, karaciğer parenşimi ve stromasının, böbrek tubulusları, korpuskulum renalis ve melanomakrofajlarının ve solungaç primer ve sekonder lameller yapılarının normal histolojik yapı gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.1). Pestisitlere maruz bırakılan balıkların solungaç (Şekil 4.2), karaciğer (Şekil 4.3), böbrek (Şekil 4.4) ve dalak (Şekil 4.5) dokularındaki lezyonlar Tablo 4.4'te özetlenmiştir.



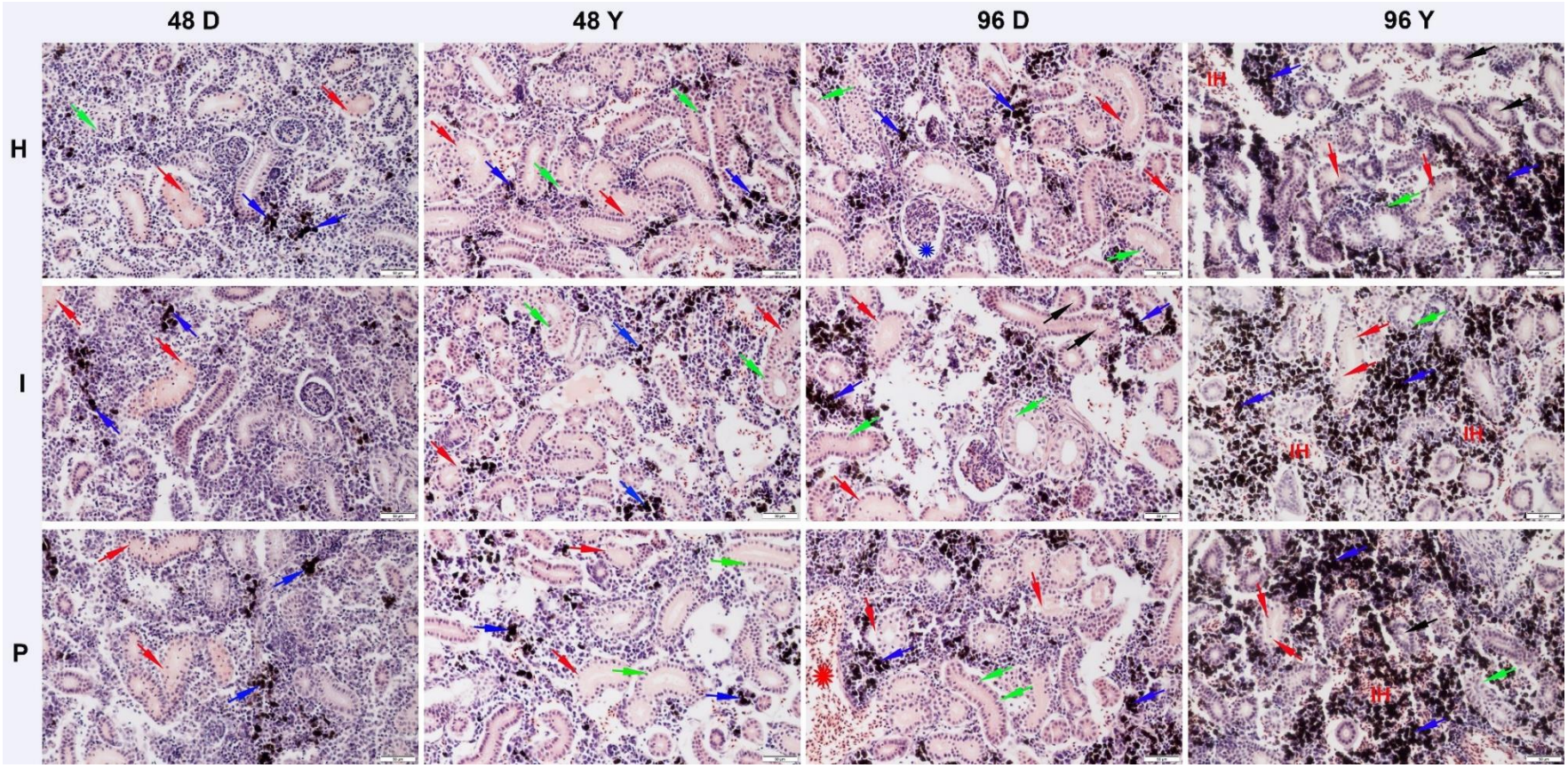
Şekil 4.1 Kontrol grubundaki balıklardan alınan karaciğer, dalak, böbrek ve solungaçların genel görünümü. VC: Vena sentralis. RP: Kırmızı pulpa. WP: Beyaz pulpa. T: Böbrek tubulleri. G: Glomerulus. Mavi ok: Melanomakrofaj. H&E. Bar:50 µm



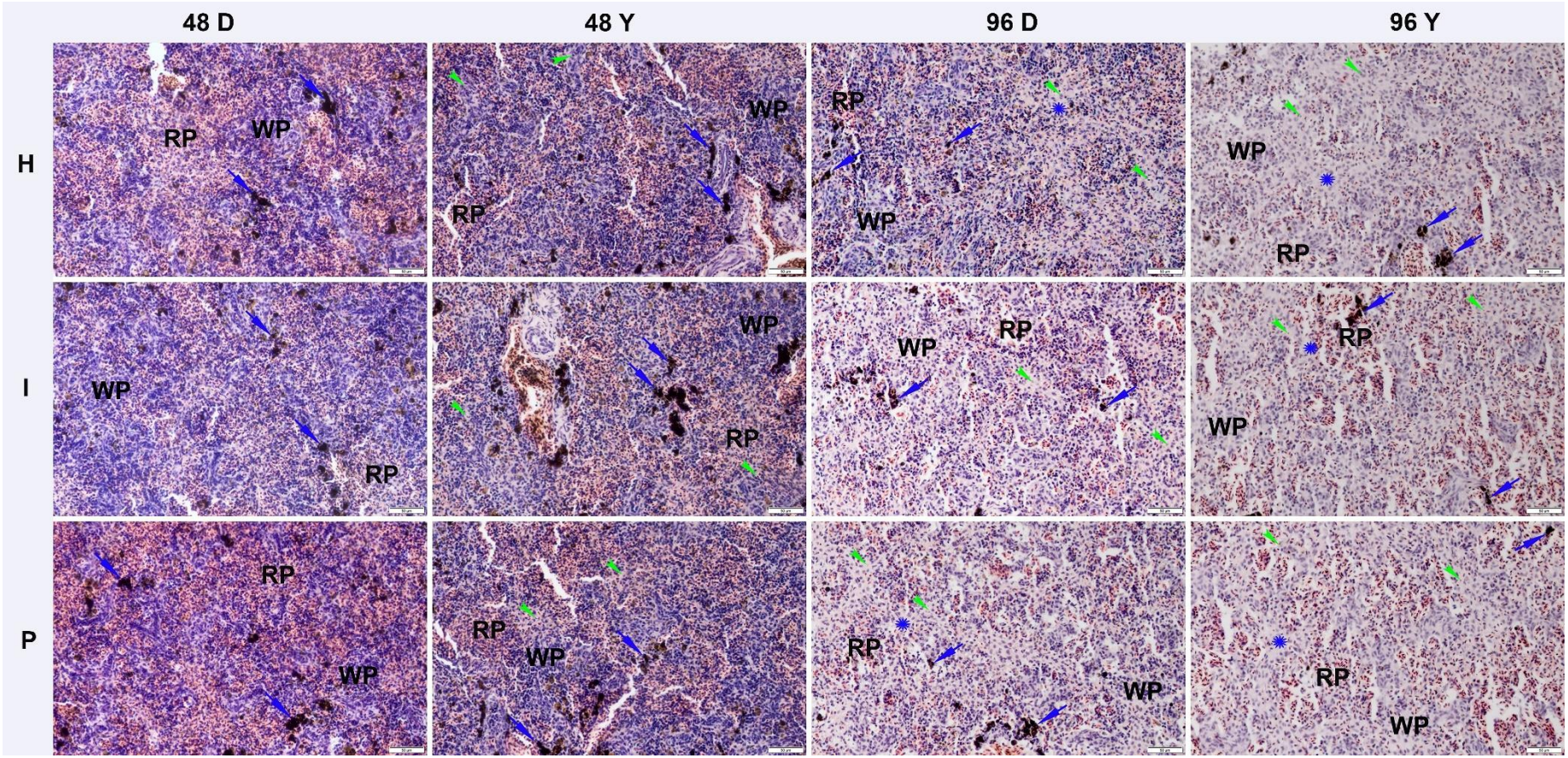
Şekil 4.2 Pestisitlere maruz bırakılan gökkuşağı alabalıkların solungaçlarındaki histopatolojik değişimler. Siyah ok başları: Sekonder lamellerdeki epitel hücrelerinde ayrılma, Kırmızı ok başları: Epitel hücrelerinde hiperplazi, Siyah asteriksler: Sekonder lamellerde anevrizmalar, H: Hiperemi, LF: Lamellar füzyon, H: Hymeksazol, I: İmazamoks, P: Piriproksifen, D: Düşük Konsantrasyon, Y: Yüksek Konsantrasyon, 48: 48 saat, 96: 96 saat, H&E. Bar:100 µm



Şekil 4.3 Pestisitlere maruz bırakılan gökkuşağı alabalıkların karaciğerindeki histopatolojik değişim. Mavi ok başları: Hepatositlerde vakoulazisyon. Mor ok başları: Piknotik çekirdekli hepatositler. Mavi asteriksler: Nekrotik alanlar. H: Hiperemi. VC: Vena sentralis. H: Hymeksazol, I: İmazamoks, P: Piriproksifen, D: Düşük Konsantrasyon, Y: Yüksek Konsantrasyon, 48: 48 saat, 96: 96 saat, H&E. Bar:50 µm



Şekil 4.4 Pestisitlere maruz bırakılan gökkuşağı alabalıkların böbreklerindeki histopatolojik değişim. Yeşil oklar: Tubul epitel hücrelerinde vakoulazisyon. Kırmızı oklar: Tubullerde nekroz ve dejenerasyon. Mavi asteriks: Bowman aralığında genişleme. Mavi oklar: Melanomakrofajlar. Mavi asteriksler: Nekrotik alanlar. Kırmızı asteriks: Hiperemi. IH: İntersitisyel hemoraji. H: Hymeksazol, I: İmazamoks, P: Piriproksifen, D: Düşük Konsantrasyon, Y: Yüksek Konsantrasyon, 48: 48 saat, 96: 96 saat, H&E. Bar:50 µm



Şekil 4.5 Pestisitlere maruz bırakılan gökkuşağı alabalıkların dalaklarındaki histopatolojik değişim. Yeşil ok başları: Piknotik çekirdekli hücreler. Mavi asteriksler: Nekrotik hücreler. Mavi oklar: Melanomakrofajlar. RP: Kırmızı pulpa, WP: Beyaz pulpa, H: Hymeksazol, I: İmazamoks, P: Piriproksifen, D: Düşük Konsantrasyon, Y: Yüksek Konsantrasyon, 48: 48. saat, 96: 96. saat, H&E. Bar:50 µm

Tablo 4.4 Pestisitlere maruz bırakılan gökkuşağı alabalıkların solungaç, karaciğer, böbrek ve dalak dokularında meydana gelen histopatolojik bulgular.

Organ	Lezyon	Hymeksazol				İmazamoks				Piriproksifen			
		48 saat		96 saat		48 saat		96 saat		48 saat		96 saat	
		D	Y	D	Y	D	Y	D	Y	D	Y	D	Y
SOLUNGAÇ	Epitelyal ayrılma	+	+	+	++	+	+	++	++	+	+	+	++
	Epiteliyal hiperplazi	+	++	+++	+++	+	++	++	+++	+	++	+++	+++
	Epiteliyal hipertrofi	+	++	++	+++	+	+	++	++	+	+	++	+++
	Epithelial nekroz	+	+	++	++	+	++	++	+++	+	+	++	+++
	Hiperemi	+	++	++	++	+	+	++	++	+	++	+++	+++
	Lamellar füzyon	-	-	+	++	-	-	++	++	-	-	++	++
KARACİĞER	Hepatositlerde vakuolar dejenerasyon	+	++	++	++	+	++	++	++	+	++	++	++
	Hepatositlerde nükleer dejenerasyon	+	+	++	++	+	+	++	+++	+	++	++	+++
	Hepatositlerde nekroz	+	+	++	+++	+	+	++	+++	+	+	++	++
	Hiperemi	++	++	++	+++	+	++	++	++	+	+	++	++
	Ödem	+	+	++	++	+	++	++	++	+	+	++	++
BÖBREK	Tubullerde vakuolar dejenerasyon	+	+	++	++	+	++	++	++	+	+	++	++
	Tubullerde nekroz	+	+	++	++	+	++	++	++	+	+	++	++
	Glomerular dejenerasyon	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++
	İntersitisyel hemoraji	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	++	++
	Melanomakrofaj sayısında artış	+	+	+	++	+	+	+	++	+	+	+	++
DALAK	Parankim hücrelerinde nükleer dejenerasyon	+	+	++	+++	+	+	++	+++	+	+	++	+++
	Parankim hücrelerinde nekroz	+	+	++	+++	+	+	++	+++	+	+	++	+++
	Beyaz pulpa alanlarında genişleme	-	-	+	++	-	-	++	+++	-	-	++	+++

Piriproksifen için D: 150 µg/L, Y:300 µg/L; imazamoks için D: 50 mg/L, Y: 100 mg/L; hymeksazol için D: 150 mg/L, Y: 300 mg/L; yok: -, hafif: +, orta: ++, şiddetli: +++

4.3 DNA Hasarı (Comet Assay)

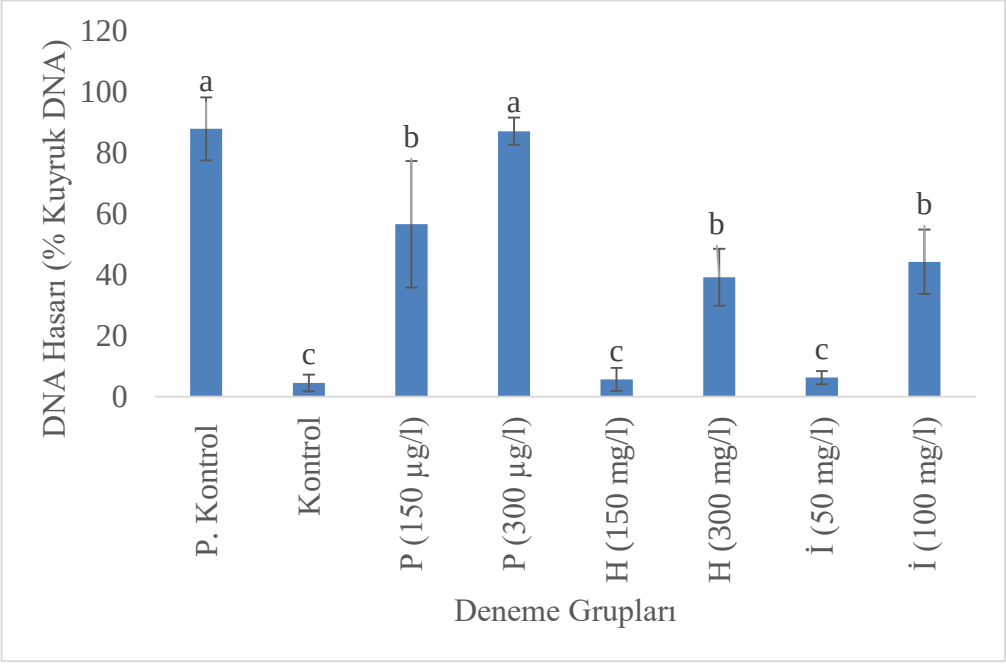
Subletal pestisit konsantrasyonlarına maruz bırakılan gökkuşağı alabalıklarının DNA'larında kontrol grubuna kıyasla pestisit türüne ve maruziyet konsantrasyonuna bağlı olarak önemli derecede hasarlar tespit edilmiştir (Tablo 4.5). Ayrıca, pozitif kontrol grubuna H_2O_2 uygulanması ile elde edilen hasar Kuyruk DNA (%) için piriproksifenin 300 µg/L konsantrasyon ile arasında fark tespit edilememiştir ($P>0,05$; Tablo 4.5).

Baş yoğunluğu değerleri incelendiğinde kontrol grubuna kıyasla hymeksazol ve imazamoksun yüksek konsantrasyonlarında önemli farklılık tespit edilirken ($P<0,05$) piriproksifenin her iki konsantrasyonunda fark tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Baş DNA (%) değerleri incelendiğinde en yüksek değer % 95,47±2,69 ile kontrol grubunda tespit edilirken bunu % 94'lük değerlerle imazamoks ve hymeksazolun düşük konsantrasyonları takip etmiştir. Kontrol grubuna kıyasla bu iki pestisitin düşük konsantrasyonları arasında önemli fark tespit edilemezken ($P>0,05$) yüksek konsantrasyonları arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Piriproksifen'in her iki konsantrasyonundaki Baş DNA (%) değerleri arasında kontrol grubuna kıyasla önemli fark tespit edilmiştir ($P<0,05$). Kuyruk DNA (%) değerlerine bakıldığında ise yine hymeksazol ve imazamoksun düşük konsantrasyonları kontrol grubuna kıyasla fark tespit edilemezken ($P>0,05$) bu iki pestisitin yüksek konsantrasyonları ontrol grubuna kıyasla farklı bulunmuştur ($P<0,05$). Yine piriproksifenin her iki konsantrasyonunda % Kuyruk DNA değerleri kontrol grubuna kıyasla farklı bulunmuştur ($P<0,05$). Tüm bunlara ek olarak pozitif kontrol (H_2O_2) grubunda hesaplanan % baş DNA (4,87±2,60) ve % kuyruk DNA (87,97±10,36) değerleri piriproksifenin yüksek konsantrasyonuna maruz bırakılan balıklardaki % baş DNA (12,78±4,47) ve % kuyruk DNA (87,22±4,47) değerleri aralarında fark tespit edilmemiştir ($P>0,05$; Tablo 4.5, Şekil 4.6). Tüm pestisitler arasında seçilen konsantrasyonlar en genotoksik pestisit piriprksifen olarak belirlenmiştir (Şekil.4.7).

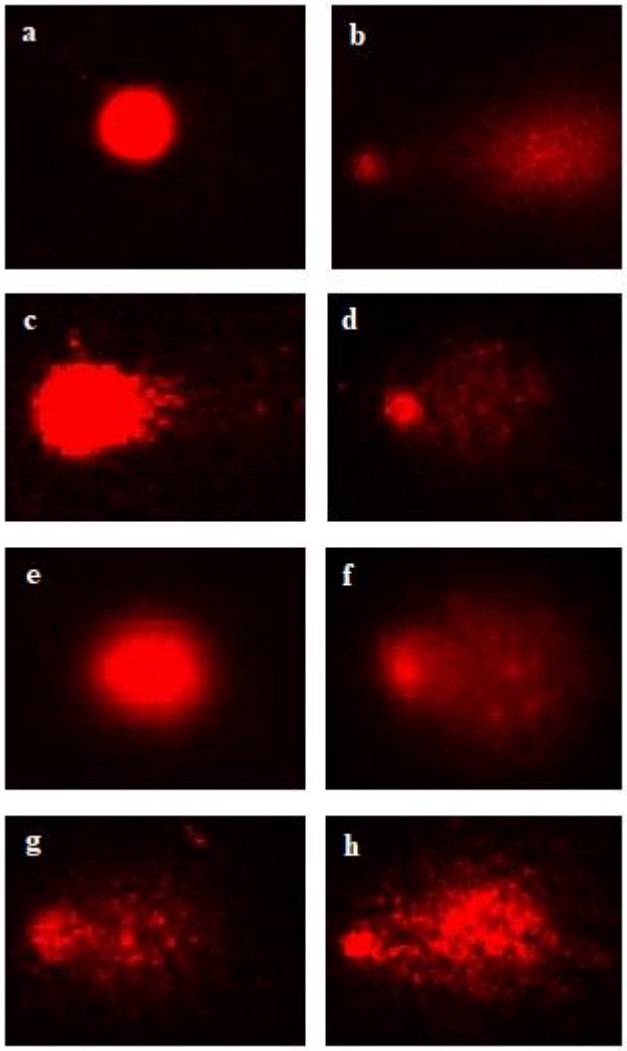
Tablo 4.5 Pestisitlerin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan gökkuşağı alabalıklarının kan hücrelerindeki comet assay değerleri (ortalama±standart sapma)

Deneme Grubu	DNA Hasarı Değerleri			
	Baş Yoğunluğu	Baş DNA (%)	Kuyruk Yoğunluğu	Kuyruk DNA (%)
Kontrol	146,14±18,93^{ac}	95,47±2,69^{a}	14,63±2,19^{ef}	4,53±2,69^{c}
Pozitif Kontrol (H_2O_2)	45,57±4,76^{d}	4,87±2,60^{c}	59,10±3,00^{ab}	87,97±10,36^{a}
Piriproksifen (150 µg/L)	156,42±20,25^{a}	43,36±20,77^{b}	50,06±12,85^{ac}	56,64±20,77^{b}
Piriproksifen (300 µg/L)	128,22±9,99^{ab}	12,78±4,47^{c}	70,83±26,91^{a}	87,22±4,47^{a}
Hymeksazol (150 mg/L)	130,77±12,00^{ac}	94,32±3,77^{a}	17,28±3,38^{de}	5,68±3,77^{c}
Hymeksazol (300 mg/L)	43,96±12,04^{d}	60,76±9,35^{b}	21,03±6,73^{df}	39,24±9,35^{b}
İmazamoks (50 mg/L)	115,16±25,15^{bc}	94,22±2,67^{a}	35,04±5,55^{cd}	6,29±2,17^{c}
İmazamoks (100 mg/L)	79,56±15,13^{d}	57,68±7,98^{b}	47,30±4,32^{bc}	44,32±10,59^{b}

Küçük harfler aynı sütundaki farklılıkları gösterir P<0,05



Şekil 4.6 Pestisitlerin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan gökkuşağı alabalıklarının kırmızı kan hücrelerindeki DNA hasarları (% kuyruk DNA) (ortalama±standartsapma). P. Kontrol) Pozitif Kontrol, P) Piriproksifen, H) Hymeksazol, İ) İmazamoks



Şekil 4.7 Pestisitlerin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan gökkuşağı alabalıklarının kan hücrelerinde Comet oluşumu. (a) Kontrol, (b) H2O2 ile pozitif kontrol, c) Hymeksazol 150 mg/L, d) Hymeksazol 300 mg/L, e) İmazamoks 50 mg/L, f) İmazamoks 100 mg/L, g) Piriproksifen 150 µg/L, h) Piriproksifen 300 µg/L

5. TARTIŞMA

Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de zirai alanlarda pestisitlerin kullanımında artışlar görülmektedir. Ülkemiz pestisit kullanımı açısından dünyada yaklaşık 54000 ton ile 12. Sırada yer almaktadır ve bu kullanılan pestisitlerin yaklaşık %40,7'sini fungusit ve bakterisit oluştururken %25,7'sini insektisitler ve %21,7'sini de herbisitler oluşturmaktadır (FAOSTAT, 2020).

Pestisitler zirai alanlarda kullanılırken hedef canlıların yanında sucul ortamlarda kirlilik oluşturmaktadır. Gerek sucul canlıların dokularında birikmesiyle gerek canlılarda ölümlere sebep vermesiyle sucul ortamlarda kirletici olarak kaşımıza çıkmaktadır. Pestisitler letal konsantrasyonlarında sucul ortamlara ulaştığında, ortamdaki canlılarda ölümlere sebebiyet vermektedir. Letal olmayan yani subletal konsantrasyonlarda ise özellikle balıkların hayati organlarında histopatolojik etki yapmakla birlikte bu pestisitler biyokimyasal ve genotoksik etkiler de yapabilmektedir.

Birçok dokuda bulunan ve alanin amino grubunun α- ketoglutarata transferini katalizleyerek pirüvat ve glutamat meydana getiren alanin aminotransferaz (ALT), aminoasit katabolizması sırasında glutamat sentezinde fonksiyon gören (L- glutamat + pirüvat + α-ketoglutarat + L- alanin) bir enzimdir (Champe vd., 2005). Hepatosellüler hasarın tanımlanmasında yaygın olarak kullanılan ALT aktiviteleri; birçok dokuda bulunmakla birlikte, hepatositlerdeki konsantrasyonları diğer enzimlere göre çok yüksektir. Bundan dolayı membran geçirgenliğini değiştiren bir durumda enzim serum içine sızabilmektedir (Champe vd., 2005). Doğan (2011) bu etkiyi, dimethoate pestisitinin gökkuşağı alabalıklarındaki toksik etkisinin maruz kalma süresi ve konsantrasyon ile pozitif ilişkili artışını, doğrudan karaciğer dokusu üzerinde ALT aktivitesi ile kendisini gösterdiği ve hücre membran geçirgenliğini bozduğunu bildirmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, piriproksifen pestisitinin, 96. saat sonunda 150 µg/L konsantrasyonunun, 300 µg/L grubuna göre balıklarda ALT değerlerini daha çok arttığı; hymeksazolde ise 300 mg/L konsantrasyonunun 150 mg/L'ye göre ALT değerinde daha çok artışa sebep olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Ayrıca 48. ve 96. saatlerde imazamoksun, 50 mg/L konsantrasyonunun 100 mg/L den daha yüksek ALT aktivitesi sağladığı tespit edilmiştir ($P<0,05$). Doğan (2011) ise, gökkuşağı alabalıklarında denedikleri dimethoate pestisitinin, 5. gününden başlayarak ALT aktivitesini tüm deneme grubu konsantrasyonunlarında arttırdığı ve bu artışın tüm uygulama periyotlarında devam ettiğini belirtmişlerdir ($p<0,01$). Bu araştırmada piriproksifen ve imazamoks gruplarında yüksek konsantrasyonların kontrol grupları ile benzer sonuçlar verdiği, hymeksazolde ise yüksek konsantrasyonun kontrolden ve 150 mg/L konsantrasyonundan daha fazla ALT aktivitesini uyardığı tespit edilmiştir ($P<0,05$). Doğan (2011), yaptığı çalışmada, artan dimethoate konsantrasyonu ile birlikte ALT seviyelerininde artışının, çalışmamızda 96. günde hymeksazol pestisinde de görüldüğü, piriproksifen ve imazamoksta ise bu durumun konsantrasyondan bağımsız olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde sentetik bir piretroid insektisit olan fenvaleratın subletal konsantrasyonunda kocabaş sazan balıklarında (*Labeo rohita*) ALT seviyelerinin yükselmesine sebebiyet verdiği belirtilmiştir (Prusty vd., 2011). Aynalı sazanda (*Cyprinus carpio*) ise cypermethrin 6, 12, 24 ve 48 saat süre ile 1,2 µg/L pestisit konsantrasyonuna maruz bırakılması sonucunda solungaç, beyin, karaciğer ve kas dokularında maruz bırakma süresi ile doğru oranlı olarak ALT enzim seviyelerinin arttığı ve protein miktarının azaldığı sonucuna ulaşılmıştır (David vd., 2004). Söz konusu pestisit ile mücadele için artan enerji talebini karşılamak amacıyla protein yıkımının uyarılmış olabileceği ve bu yanıtın artan ALT aktivitesi ile desteklendiği bildirilmiştir (David vd., 2004).

ALT, piruvat ve glutamat oluşturmak için alanin ve 2-oksoglutarat arasındaki tersine çevrilebilir transaminasyondan sorumludur (Srivastava vd., 2004). Alkalen fosfataz (ALP) ise, çinko ve magnezyum iyonları varlığında alkali pH'da fosfat esterlerinin birçok türünü hidrolize eden (Ortofosforik monoester + H_2O → Alkol + Pi) bir metalloenzimdir. ALP fosfat gruplarının ortadan kaldırılmasına etki etmekte olup başlıca karaciğer ve kemikte bulunmaktadır (Eya ve Lovel, 1997). ALP aktivitesi akut ve kronik karaciğer hastalıklarında artabilir. ALT ve AST enzimlerinden farklı olarak, ALP aktivitesinde artış hasarlı hücrelerden sızma yoluyla olmayıp, safra akışının engellenerek, hepatik ALP de novo sentezini uyararak yeni sentezlenen enzimin dolaşıma katılması ile olur (Kaneko vd., 1997). Bu çalışmada piriproksifenin 48. saatte hiçbir konsantrasyonunun ALP seviyelerine etkisi olmamışken 96. saatte kontrol

grubu ile 150 µg/L grubunun enzim seviyelerinin benzer çıktığı (P>0,05) ve 300 µg/L grubundan yüksek çıktığı tespit edilmiştir (P<0,05). Hymeksazol pestisitinin ise denenen tüm konsantrasyonların ve uygulama sürelerinin ALP seviyelerinde kontrol grubuna göre artışa neden olsa da bu farkın önemsiz olduğu tespit edilmiştir (P>0,05). Bu sonuçtan farklı olarak, imazamoksta ise 48. saatte deneme gruplarının kontrolden yüksek ALP seviyelerine neden olduğu tespit edilmiştir (P<0,05). Simazine maruz bırakılan sazan balıklarında (*C. carpio*) 1 ve 2 µg/L denenen gruplarda ALT seviyelerinde artış olduğu, 4 µg/L simazine maruz bırakılan gruplarda ise ALT ve ALP seviyelerinin kontrol grubundan yüksek olduğu tespit edilmiştir (Velisek vd., 2012). Borges vd. (2007) ise, *R. quelen* türünün 2, 4 ve 8 gün süre ile cypermethrin pestisitinin 0,08 ve 0,12 mg/L derişimlerine maruz bırakılması sonucunda glukoz ve ALP enzim seviyelerinde artış ve protein miktarında azalma meydana geldiğini, yüksek derişimde ise ALT aktvitesinin inhibe olduğu bildirilmişlerdir. Başlıca karaciğer ve kemikte bulunun ALP ile ilgili olarak kedi balığı (*C. batrachus*) türünün karbamatlı bir pestisit olan karbaril ve organofosfat subletal derişimlerine maruz bırakıldığı çalışmada, ALP enzim aktivitesinin arttığı ve bu artışın karaciğerde hücre nekrozu veya yüksek osteoblastik aktiviteden kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Jyothi ve Narayan, 1999).

Kolesterol gelişme ve üreme için temel olan kolesterol, androjen ve östrojen gibi birçok hormonun steroid ön maddesidir. Büyük bir bölümü kan dolaşımındaki düşük yoğunluklu lipoproteinlerden (LDL) sağlanan kolesterolün, az bir kısmı da korteks hücrelerinde bulunan ve steroitlerin oluşumunda temel başlangıç madde olarak bilinen asetattan karşılanmaktadır (Arslan, 2015). Prooksidan ve antioksidan faktörler arasındaki düzenin değişmesinden veya oksidatif stresin bir sonucu olarak oluşabilen lipid peroksidasyonu, membrana bağlı proteinler veya kolesterol gibi membranla ilişkili biyomolekülleri etkileyebilmektedir (Sevinç, 2017). Bu çalışmada piriproksifen, hymeksazol ve imazamoks pestisitlerinin zaman arttıkça kolesterol seviyelerini düşürdüğü, 96. saatte yapılan örneklemede tüm pestisit gruplarının, kontrol grubundan yüksek kolesterol değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir (P<0,05). Bu çalışmadaki sonuçlarına benzer şekilde asetoklor ve glifosat pestisitlerinin farklı konsantrasyonlarda gökkuşağı alabalıklarının kolesterol düzeylerini kontrol grubuna göre düşürdüğü tespit edilmiştir (Arslan, 2015). Özden (2016), *Carassius gibelio*'da cypermethrinden kaynaklanan sorunların

belirlenebilmesi için biyokimyasal analizler neticesinde kreatin, kolesterol seviyelerinde düzensiz değişimler tespit etmişlerdir. Özden (2016) üç konsantrasyonda (26 µg/L, 39 µg/L, 52 µg/L), 96 saat cypermethrine maruziyeti neticesinde tüm uygulama gruplarının kontrol grubuna göre, kolesterol seviyelerinde düşme medana geldiğini ve bu düşüşün konsantrasyon arttıkça daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Bu durumun tersine, 2, 4 veya 8 günlük sürelerde cypermethrinin subletal konsantrasyonlarına (48 saatlik 0,265 mg/L olan LC_{50} değerinin %30'u ve %45'i) maruz kalan kedi balıklarında (*Rhamdia quelen*) kolesterol seviyelerinde ciddi artış meydana geldiği bildirilmiştir (Borges vd., 2007). Atamanalp ve Solak (2004), yapmış oldukları çalışmada daha kirli olan ortamda balıklarda kolesterol seviyesinin artış gösterdiğini; benzer şekilde, Borges vd. (2007), ise farklı sürelerde cypermethrinin subletal konsantrasyonlarının (LC_{50} değerinin 0,08 mg/L), *Rhamdia quelen* türü balıklarda kreatin seviyelerini arttırdığını bildirilmişlerdir. Bu çalışmada piriproksifenin kreatin seviyelerinde farklılığa neden olmadığı, fakat hymeksazol ve imazamoks pestisitlerinin balıklarda kreatin seviyelerini özellikle 96. saate kontrol grubuna göre önemli derecede düşürdüğü tespit edilmiştir ($P<0,05$). Kreatin, ADP'nin fosforilizasyonunun bir atık ürünü olup, artan konsantrasyonları yapısal zararlar verebilmekte ve böbreklerin işlevini etkileyebilmektedir. Kreatin seviyelerini yükselmesi; glomerular filtrasyonların azalması ve renallerin görevini yapamamasıyla ilişkilidir. Endüstriyel kirliliğin, balıklarda kreatin artışına neden olmasının yanında, oksijen eksikliği de neden olmaktadır. Bununla birlikte enfeksiyonlarda kreatin artışının nedeni olarak, dokulardaki protein yıkımı gösterilmekte olup, böbrek hastalıkları sonucunda da kreatin düzeylerinde bir artış meydana gelebilmektedir (Arslan, 2015). Çalışmamızda en yüksek kreatin değerleri kontrol gruplarında 48. saat 0,33±0,01 mg/dL olarak ve 96. saatte 0,36±0,03 mg/dL olarak tespit edilmiştir. Öncelikli işlevleri hücresel enerjiyi sağlamak ve depolamak olan trigliserdler canlının beslenme durumu hakkında bilgi verdiği bilinmektedir (Yang ve Chen, 2003). Atamanalp vd. (2002), cypermethrinin gökkuşağı alabalığında kreatin aktivitesini araştırdıkları çalışmalarında söz konusu parametre açısından, gruplar arasındaki ve gruplarla kontrol arasındaki farkların önemsiz olduğunu bildirmişlerdir. Arslan (2015) ise, asetoklor ve glifosat pestisitlerinin sub-letal konsantrasyonlarının gökkuşağı alabalıklarında kreatin seviyelerinde düşüşlere neden olduğunu, fakat gruplar arasındaki bu farklılığın istatistiksel açıdan önemli olmadığını belirtmişlerdir

(P>0,05). Çakıcı (1999), gökkuşağı alabalığında kreatin değerini (0,1-0,7 mg/dL) olarak tespit etmişken, Bentinck-Smith vd. (1987) ise kanal kedi balığında (*Ictalurus punctatus*) kreatin değerini 2,50 mg/dL olarak yüksek bir değer tespit etmişlerdir. Bu tez çalışmasında piriproksifen ve imazamoks gruplarında 96. saatte kontrol gruplarının trigliserid seviyeleri pestisit uygulanan gruplardan yüksek çıkmış olup, hymeksazol grubunda ise düşüş tespit edilmiştir. Bu çalışmaya benzer şekilde, Borges vd. (2007), *Rhamdia quelen* türü kedi balıklarında cypermethrinin subletal konsantrasyonlarına maruz bırakılması sonucunda trigliseridlerde düşüş meydana geldiğini bildirmişlerdir. Bu durumdan farklı olarak; Arslan (2015), asetoklor ve glifosfat pestisitlerinin birlikte uyguladıkları böylece pestisitlerin sinerjik etkisine maruz bıraktıkları gökkuşağı alabalıklarında trigliserid değerlerinin diğer gruplara göre önemli derecede arttığını belirtmişlerdir (P<0,05). Toplam protein, plazmada bulunan başta albumin ve globulinler olmak üzere tüm proteinlerin toplamıdır. Karaciğerde sentezlenen toplam plazma proteinleri karaciğer fonksiyonları hakkında bilgi vermektedir (Yang ve Chen, 2003). Bu çalışmada toplam plazma protein seviyelerine bakıldığında; sadece piriproksifen grubunda 48. saat 300 µg/L konsantrasyonunun diğer gruplardan yüksek seviyelerde tespit edilmiştir (P<0,05). Fakat 96. saat sonunda bu durumun tersine döndüğü, kontrol ve 150 µg/L'lik grupların 300 µg/L'den daha yüksek toplam protein seviyelerine sahip olduğu tespit edilmiştir (P<0,05). Bununla birlikte hymeksazol grubunda kontrol ve deneme grupları arasında toplam protein seviyelerinde fark olmadığı görülmüştür (P>0,05). Albumin değerlerine bakıldığında ise hiçbir pestisit grubunda denenen tüm konsantrasyonlar ile kontrol grupları arasında önemli bir fark tespit edilememiştir (P<0,05). Arslan (2015) ise; gökkuşağı alabalıklarında Asetoklor, Gliphosate ve ikisinin kombinasyonunun toplam proteini ve albümine etkisi açısından değerlendirme yaptıkları çalışmalarında; en yüksek toplam protein ve albümin değerinin düşük konsantrasyon kombinasyon grubunda, en düşük değerin ise toplam protein için yüksek konsantrasyon kombinasyon grubunda, albümin için ise düşük konsantrasyon asetoklor grubunda tespit etmişlerdir. Fakat bu değişimleri istatistik açıdan anlamlı olmadığını bildirmişlerdir (P>0,05). Plazma proteinleri enzimatik aktarım ve hormonel işleve sahip oldukları için kirleticilerden çabuk etkilenmekte ve albümin molekülleri tarafından toksik maddelerin plazmaya bağlanması sonusunda, açıkta kalan maddelerin zehir etkisi göstermektedir (Atamanalp vd., 2002). Borges vd. (2007), kedi balıklarında cypermethrinin subletal konsantrasyonlarının 2, 4 veya 8

günlük sürelerde toplam proteinde ve trigliserid değerlerinde düşüşe sebebiyet verdiğini ve bu değerler gibi biyokimyasal parametrelerle cypermethrinin toksik olduğunun saptanabileceğini belirtmişlerdir.

Pestisitlerin karaciğer enzim aktivitesini bozarak, protein sentezini etkileyebildiği ve buna bağlı olarak protein miktarında değişimlere sebep olmasının yanında; glikojen stoğunu ve serum glukoz seviyelerini de değiştirebileceği belirtilmiştir (John, 2007; Sancho vd., 2000). Bu nedenle glukoz ve protein en sık değişebilen bir biyokimyasal karakterizasyona sahip kan parametreleri olup, organizmanın sağlık durumu hakkında genel bir değerlendirmede ve metabolik düzensizliklerin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Neff, 1985). Bu çalışmada glukoz seviyelerinin piriproksifen grubunda konsantrasyona ve süreye bağlı olmaksızın gruplar arasında bir değişime uğramadığı ($P>0,05$), hymeksazolde ise yüksek konsantrasyon uygulamasının diğer gruplara göre glukozu arttırdığı tespit edilmiştir ($P<0,05$). Bu durumun tersine imazamoks pestisitinin 48. saat sonunda deneme gruplarda glukoz seviyelerinin kontrol grubundan düşük olduğu, 96. saat sonununda ise gruplar arasında glukoz seviyelerinin fark göstermediği tespit edilmiştir ($P>0,05$). Das ve Mukherjee (2000), sıvı formdaki kuinalfos insektisitinin 0,22 mg/L ve 1,12 mg/L konsantrasyonlarını rohu balıklarında (*Labeo rohita*) 45 gün deneyerek glukoz miktarında maksimum artışın %33,56 olacak şekilde tüm süre ve konsantrasyonlarda arttığını belirtmişlerdir ($P<0,05$). Benzer şekilde cypermethrinin rohu balıklarında kan glukoz miktarını 30 ve 45. günlerde belirgin bir şekilde arttırdığı ve kullanılan konsantrasyonların LC_{50} değeri olan 0,139 mg/L'nin 1/10 ve 1/50 olacak şekilde seçildiği belirtilmiştir (Das ve Mukherjee, 2003).

Histopatolojik değişiklikler belirli hedef organların incelenmesine izin veren çevresel izlemede önemli biyobelirteçler olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada kullanılan pestisitlerin gökkuşağı alabalıklarındaki etkisi histopatolojik olarak değerlendirildiğinde, üç pestisitin subletal konsantrasyonalarından özellikle yüksek olanlarında solungaçlarda tahribatlara yol açtığı tespit edilmiştir. Hymeksazol ve piriproksifenin denenen yüksek konsantrasyonaları 96. saat sonunda solungaçlarda epitelyal ayrılmaya orta hasar derecesinde sebebiyet verirken, imazamoks 96. saatte hem düşük hemde yüksek konsantrasyonların aynı etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Hymeksazol ve piriproksifen pestisitlerinin 96. saatte hem düşük hem de yüksek konsantrasyonlarda şiddetli derecede epitelyal hiperplazi oluşumuna sebebiyet verdiği; imazamoksun ise söz konusu bu etkiyi sadece 96. saatte yüksek konsantrasyonda yaptığı tespit edilmiştir. Ayrıca balıkların söz konusu üç pestisite maruz bırakılma süreleri arttırıldıkça, epitelyal hipertrofi ve epitelyal nekrozis oluşumu şiddetini arttırdığı gözlenmiştir. Devi ve Mishra (2013) ise *Channa punctata* türü balıklarda, 7 günlük 0,538 µl/L klorpirifos uygulamasının, sekonder lamellerin tamamen yok olmasına, solungacın apikal distal uçlarının etkilenmesine ve bozulmuş kan kılcal damarların bir araya gelmesi sonucu lamellar anevrizmanın oluşmasına sebebiyet verdiğini belirtmişlerdir. Solungaçlarda hipereminin çalışılan tüm pestisitlere maruz kalma süresine bağlı olarak tahribatı artarken; 48. saatte lamellar füzyon izlenmediği, 96. saatte üç pestisit grubununda orta şiddette tahribata sebep olduğu tespit edilmiştir. Bu duruma benzer şekilde Neskovic vd. (1996), glifosat ile muamele edilmiş sazan balıklarının solungaçlardaki lökosit infiltrasyonunun, solunum sırasında solungaç boyunca oluşan toksik ortamdaki ozmotik su akışına karşı balıkların sürekli olarak savaştığı bir enflamatuar yanıt olabileceğini bildirmişlerdir. Devi ve Mishra (2013), benekli yılanbaşı balıklarında (*Channa punctata*), 7 gün süreyle klorpirifos (CPF) maruziyetinin lameller epitelde (LE) artışa, filamenter epitelde ise ödem ve yoğun lameller vazodilatasyonlara sebebiyet verdiğini belirtmişlerdir. Ayrıca, 1.46 µl / l CPF ile muamele sonucunda, sekonder lamellerin çeşitli alanlarında, klorür hücresi, sütun hücresi, kaplama hücresi ve mukus goblet hücrelerinde hiperplazili lamellar füzyonu oluşumu tespit etmişlerdir. Pestisitlere maruz kalmış gökkuşağı alabalıklarının çeşitli dokularının, histopatolojik değerlendirmesi, dalakta beyaz ve kırmızı pulpa alanları, karaciğer parenşimi ve stroması, böbrek tubulusları, korpuskulum renalis ve melanomakrofajları ile solungaç primer ve sekonder lamel yapıları normal histolojik bulgu gösteren kontrol grubuna göre yapılmıştır. Uygulanan tüm pestisitlerin konsantrasyonlarının tamamının solungaçlarda sekonder lamellerdeki epitel hücrelerde ayrılmaya ve epitel hücrelerde hiperplaziye sebebiyet verdiği; ayrıca imazamoksun 96. saat örneklemesinde sekonder lamellerde anevrizma oluşumlarına neden olduğu tespit edilmiştir. İmazamoks grubunun 48. saat düşük ve yüksek konsantrasyonlarında hiperemik oluşumlar gözlemlenirken; 96. saat düşük ve yüksek konsantrasyonlarda lamellar füzyonlar tespit edilmiştir. Bu durumdan farklı olarak hymeksazol ve piriproksifen gruplarının 48. saat

örneklemelerinde hiperemi ve lamellar füzyona rastlanmazken; söz konusu grupların 96. saat düşük ve yüksek konsantrasyonlarında bu bulgulara rastlanılmıştır.

Detoksifikasyon ve birikim süreciyle en çok ilişkili organ karaciğer olup işlevi, konumu, kan akışı nedeniyle sudaki kirleticilerden en çok etkilenen organlardan biridir (Camargo ve Martinez, 2007). Balık fizyolojisinde önemli bir rol oynayan karaciğer, hem anabolizmada (protein, lipid, karbonhidrat), hem de katabolizmada (glikojenoliz, detoksifikasyon) ve ayrıca başta glikojen olmak üzere birçok madde için depolama merkezi görevi görür (Devi ve Mishra, 2013). Tüm pestisit gruplarının karaciğerlerinden alınan histolojik kesitleri incelendiğinde, 48. saat düşük ve yüksek konsantrasyon gruplarının hepatositlerinde vakoulazisyona rastlandığı, ayrıca buna ek olarak yüksek subletal konsantrasyon uygulanan gruplarda piknotik çekirdekli hepatositlere rastlanmıştır. Yine tüm pestisit gruplarının düşük ve yüksek konsantrasyonlarından 48. saat sonunda alınan karaciğer kesitlerinden farklı olarak 96. saat örneklerinde çok sayıda nekrotik alanlara rastlanmıştır. Karaciğerde söz konusu bulguların dışında piriproksifen grubunda 48. saat düşük ve yüksek konsantrasyonlarda hiperemilere rastlanırken; hymeksazol yüksek konsantrasyon gruplarının 48. ve 96. saat örneklemelerinde sırasıyla vena sentralis ve hiperemi tespit edilmiştir. Pestisit toksisitesinde bulunan kirletici maddelerin, detoksifikasyon sahası olan hepatosit üzerinden doğrudan toksik etkileri anlaşılabilir. Pestistlerin; balıkların solungaç, karaciğer, böbrek ve dalaklarında meydana getirdiği histopatolojik değiklikler ile ilgili literatürde pek çok çalışma mevcuttur. Kronik stresin belirlenmesinde intrarenal hücrelerin histolojik özellikleri önemli bir tanımlayıcı olup (Donaldson, 1981); intrarenal hücrelerde oluşabilecek hipertrofi, populasyonun maruz kalkarşı karşıya kaldığı kronik stresin değerlendirilmesinde iyi bir araçtır (Norris vd., 1997). Devi ve Mishra (2013) balıklarda karaciğer parankiminin, muhtemelen CPF ile kontamine suya maruz kalmasına bağlı metabolik hasar ve dejenerasyon (sitoplazmik ve nükleer) oluşturduğu, hepatositlerde ise vakuolasyon belirtisinin görüldüğünü belirtmişlerdir.

Pestisitlere maruz bırakılan gökkuşağı alabalıklarının böbreklerindeki histopatolojik değişim incelendiğinde, imazamoks ve piriproksifenin 48. saat düşük konsantrasyon gruplarının dışında tüm pestisit gruplarının tüm örneklemelerinde tubul epitel

hücrelerinde vakoulazisyon, tubullerde nekroz, dejenerasyon ve ayrıca melanomakrofajlar tespit edilmiştir. Bununla birlikte 96. saat düşük konsantrasyon hymeksazol ve piriproksifen gruplarında sırasıyla; nekrotik alanlar ve hiperemilere rastlanmıştır. Mandal ve Kulshrestha (1980) bir insektisit olan sumithiona maruz bırakılmış kedi balıklarında nefropatolojiyi inceledikleri çalışmalarında pestisitin, böbreklerde glomerulus dejenerasyonunu ve hücre epitelinde koful oluşumu gibi değişiklikler meydana getirdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada tüm yüksek konsantrasyon pestisit gruplarının 96. saat örneklerinde intersitisyel hemoraji oluşumlara rastlanmıştır. Benzer şekilde hekza klorsiklo hekzanın rohu balıklarının hücre çekirdeklerinde karyolizisi ve karyohekzisi arttırarak nekrotik değişikliklere sebep olduğu (Das ve Mukherjee, 2000); sentetik bir piretroid insektisit olan fenvaleratenin ise *Ctenopharyngodon idellus* türü ot sazanlarının böbreğinde granüller ve vakuol dejenerasyonu ile hücresel hipertrofiye ve şiddetli nekroza neden olduğu belirtilmiştir (Tilak vd., 2001). Ortiz vd. (2003), lindan uygulanmış balığın böbreklerinde tübül epitel hücrelerinde vakuol oluşumu, nekroz ve deskuamasyon rapor etmişlerdir. Cengiz (2006) ise deltamethrin uygulanmış *Cyprinus carpio* dokularında tübül lümeninde daralma, renal tübül epitel hücrelerinde dejenerasyon, hemapoetik dokuda piknotik çekirdek, glomerular kılcallarda dilatasyon, glomerulus dejenerasyonu ve renal tübül epitel hücrelerinin sitoplazmalarında vakuol oluşumu gözlemlendiğini rapor etmişlerdir. Bu çalışmalardaki bulgular ile bu tez çalışmasında elde edilen bulgular benzerlik göstermektedir. Velmurugan vd. (2007) *Cirrhinus mrigala* bireylerinin dokularında Lambdacyhalothrin'in etkilerini incelemişler ve bu pestisitin belirli konsantrasyonlarının 10. günün sonunda böbrek dokularında nekroz, tübül epitel hücrelerinde hidrofik dejenerasyon, tübüler lümende daralma, glomeruluslarda atrofi ve buna bağlı olarak Bowman kapsülü ve glomeruluslar arasında kalan boşlukta genişleme meydana getirdiğini bildirmişlerdir. Yapılan bir diğer çalışmada endosulfan ve methiocarbın belirli konsantrasyonlarına 21 gün boyunca maruz bırakılan *Oncorhynchus mykiss* bireylerinin böbreklerinde hidrofik dejenerasyon, nekroz ve renal tübüler epitelin bağ dokusundan ayrılması gibi patolojiler rapor edilmiştir (Altinok ve Capkin, 2007). Satyanarayan vd. (2012) sırasıyla 0.2 mg/L ve 0.1 mg/L konsantrasyonlarda endosulfan ve diazinona maruz bıraktıkları atlantik somonunda renal tübüler epitel ve glomerüler hücrelerde dejenerasyon ve nekrozlar tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Karim vd. (2016) 0.4µg/L,

0.8µg/L ve 1.2µg/L öldürücü olmayan konsantrasyonlarda 48 ve 96 saat akut deltametrin denedikleri gümüş sazan balıklarının (*Hypophthalmichthys molitrix*) böbrek ve dalak histolojisinde önemli değişikliklerin meydana geldiğini bildirmişlerdir. Karim vd. (2016)'nin gümüş sazanlarında; denedikleri deltametrinin meydana getirdiği böbrek dokularındaki değişikliklerin, başka bir piretroid pestisit fenvalerata maruz kalan *Cirrhinus mrigala* böbreklerinde de bulunan hasarlarla da uyumludur (Velmurugan vd., 2007).

Dalak dokularında ise tüm grupların tüm konsantrasyon ve zamanlarında melanomakrofajların ve kırmızı ve beyaz pulpaların gözlemlendiği ayrıca 48 saatlik düşük konsantrasyon dışında yine tüm gruplarda piktonik çekirdekli hücresel oluşumların meydana geldiği görülmüştür. Bu çalışmaya benzer şekilde Karim vd. (2016)'nin gümüş sazanlarında deltametrinin 48. ve 72. saatlerde melanomoakrofajların oluşumuna sebebiyet verdiği belirtilmiştir. Diğer dokularda olduğu gibi pestisit uygulama süresine bağlı olarak 96. saat düşük ve yüksek konsantrasyon örneklemelerin hepsinde nekrotik hücresel oluşumlara rastlanılmıştır.

Bir ya da daha çok eşleşmemiş elektron içeren, kararsız yapıda ve kısa ömürlü olan serbest radikaller; düşük molekül ağırlıkları ile eşlenmemiş elektronlarını diğer bir moleküle verebilme ve başka bir molekülden elektron alabilme özelliğine sahip reaktif bileşiklerdir (Freeman ve Crapo, 1988; Halliwell vd., 1988). Alkali ortamda DNA kırıklarının ortaya çıkması sağlandıktan sonra elektroforez ile DNA yürütme işlemi yapılır ve böylece kırılmış DNA zincirlerinin anoda doğru göç etmesi sağlanmış olur. Bu işlem sonucunda kuyruklu yıldız görüntüsü ortaya çıkması ile bu görüntüden bazı ölçümler yapılarak DNA hasarı hakkında fikir edinilir. Zaten bu metodun, comet yani kuyruklu yıldız ismin de olmasının sebebi ortaya çıkan söz konusu şeklin kuyruklu yıldıza benzemesinden ileri gelmektedir. Tatlısu ve deniz balıklarında kirleticilerin genotoksik etkilerini değerlendirebilmek amacıyla DNA hasar tespiti çalışmaları yapılmaktadır. Örneğin Sevinç (2017), çiftliklerden elde ettikleri gökkuşağı alabalıklarında, periferal eritrositlerin tatlı sulardaki çevresel kirliliğin genotoksik potansiyel etkilerini tespit etmek amacıyla biyo-belirteç olarak çıkan sonuçların kullanılabileceğini belirtmiştir. Bu araştırmada da gökkuşağı alabalığı eritrositlerinde çevresel kirleticilere bağlı olarak meydana gelen genotoksisiteyi belirlemek ve

değerlendirmek amacıyla comet testi yapılmıştır. Balık örneklerinin eritrositlerinde DNA hasar değerleri comet parametrelerine göre baş yoğunluğu, baş DNA (%), kuyruk yoğunluğu, kuyruk DNA (%) değerleri ile tespit edilmiştir (Sevinç, 2017). Hymeksazol ve imazamoksun baş yoğunluğu değerleri kontrol grubuna kıyasla yüksek konsantrasyonlarında önemli farklılık gösterirken ($P<0,05$) piriproksifen grubunun her iki konsantrasyonunda fark görülmemiştir ($P>0,05$). Kuyruk DNA (%) ve baş DNA (%) değerleri incelendiğinde kontrol grubuna kıyasla imazamoks ve hymeksazolun düşük konsantrasyonları arasında önemli farkı yokken ($P>0,05$), söz konusu pestisitlerin yüksek konsantrasyonları arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Piriproksifen'in ise her iki konsantrasyonundaki kuyruk DNA (%) ve baş DNA (%) değerleri arasında kontrol grubuna kıyasla önemli farklar tespit edilmiştir ($P<0,05$).

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yapılan bu çalışmada piriproksifen, hymeksazol ve imazamoks pestisitlerinin subletal konsantrasyonlarına maruz bırakılan gökkuşağı alabalıklarında meydana gelen biyokimyasal, histopatolojik ve genotoksik etkiler incelenmiş ve sonuçları değerlendirilmiştir. Her üç pestisite maruz bırakılan gökkuşağı alabalıklarının hem 48. hem de 96. saat uygulamasında kontrolle kıyaslandığında çeşitli kan biyokimya parametrelerinde anlamlı değişiklikler saptanmıştır. Bu durum, pestisitlerin bulunduğu ortamda yaşayan gökkuşağı alabalıklarında fizyolojik değişikliklerin meydana geldiğini göstermektedir. Ayrıca, ortamda bulunan diğer sucul organizmaların da söz konusu pestisitlere karşı hassasiyetleri göz önünde bulundurulduğunda, bu canlıların fizyolojilerine de etki edebileceği düşünülebilmektedir.

Bu çalışmada bir diğer önemli sonuç her üç pestisitin subletal konsantrasyonlarına maruz bırakılan gökkuşağı alabalıklarının hem 48. hem de 96. saat örneklemelerinde, kontrole göre histopatolojik değişimlerin görülmesidir. Özellikle 96 saat uygulamasında balıkların dalak, solungaç ve karaciğerlerinde şiddetli derecede histopatolojik bulgular tespit edilmiş olup bu durumun pestisitlerin balıklardaki toksik etkisinden kaynaklandığını ve uzun vadede dokularda önemli zarara yol açabileceğini düşündürmektedir.

Pestisitlerin, DNA hasarına neden olup olmadığının comet testi ile incelenmesi neticesinde ise her üç pestisitin maruz bırakıldıkları konsantrasyonlarının genotoksik olduğu, ancak en yüksek genotoksik etkiyi gösteren pestisitin piriproksifenin olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$). Bu veriler ışığında pestisitlerin uzun vadede kanserojenik etki gösterebileceği de söylenebilir.

Pestisitlerin tarımda çok büyük yararları olduğu yadsınamaz bir gerçektir. Bu nedenle günümüzde pestisit kullanımı oldukça yaygındır. Ancak özellikle ülkemizde pestisit kullanımı gelişmiş ülkelere kıyasla çok daha bilinçsizce yapıldığı bilinmektedir. Pestisitlerin bol miktarda ve bilinçsizce kullanılması sonucu pestisitler; yerleşim bölgelerinde kanalizasyon ve lağım sularına karışması sonucunda, doğal su kaynaklarına ulaşabilmektedir. Bunun dışında yüzey akışları, yağmur suları, drenaj

suları ve sulama sularına karışarak da su kaynaklarına bulaşabilmektedirler (Atamanalp ve Yanık, 2001). Bu yüzden her ne kadar pestisitlerin tarımda birçok yararı bulunsa da, sucul organizmalar dahil hedef dışı başka canlılara zararlı etkileri göz önünde bulundurulmalıdır. Bu çalışmadaki çıktılarından ve referans alınan çalışmalardan anlaşılacağı üzere pestisitlerin sucul organizmalara etkileri pestisitin kimyasal özelliklerine, pestisite maruz kalma süresine ve sucul organizmanın türüne bağlı olarak farklı şekil ve düzeylerde zararlara yol açarak değişmektedir.

Sonuç olarak; pestisitlerin zararlı etkileri, genotoksik ve histopatolojik etkiden, kan biyokimya parametrelerine kadar çok yönlü olmaktadır. Özellikle solungaç ve karaciğer gibi çevresel ortamların değişimine toleransı yüksek olmayan organların uğradığı dejenerasyonlar bu durumu iyi birer indikatör olarak gözler önüne sermektedir. Pestisitlerin sebep olduğu bu zararlı etkileri engelleyebilmek için; çiftçiler ve diğer pestisit kullananlar bilinçlendirilmeli ve pestisitlerin doğru bir şekilde kullanılması sağlanmalıdır. Tarımsal uygulamalarda pestisitleri kullanan çiftçiler, su kaynakları çevresindeki arazilerde ilaçlama yaparken balıklara daha az toksik etkisi olan pestisitleri seçmeli, yağmur, rüzgar vs. gibi diğer çevresel faktörleri dikkate alarak ilaçlama yapmalı ve pestisitlerin su kaynaklarına ulaşmasını mümkün olduğunca engellemeli, ilaçlama işleminden sonra kullanılan malzemeleri su kaynaklarında yıkamamalı, boş ilaç ambalajlarını su kaynaklarına atmamalı ve bu konularda gerekli özeni göstermelidirler. Tüm bu önlemlerin aynında organik tarıma yönlenmek ve dönüştürülebilir atığa özen göstermek doğal kaynakların sağlıklı ve sürdürülebilir kullanımı için önem teşkil etmektedir.

Bu çalışmadan çıkarılabilecek bir diğer önemli sonuç; gökkuşağı alabalıklarının, pestisitlerin genotoksik etkisini, histopatolojik ve biyokimyasal etkilerini tespit etmede biyobelirteç olarak kullanılabileceğidir. Ayrıca bu pestisitlerin aynı ortamda bulunan diğer sucul organizmalar üzerinde de benzer sonuçlara yol açabileceğini de düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

AFS-FHS. (2003). American Fisheries Society-Fish Health Section, Suggested Procedures for the Detection and Identification of Certain Finfish and Shellfish Pathogens, 5th Edition. Fish Health Section, American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA.

Akgeyik, E. (2014). İmidazolinon Pestisit Grubu "İmazamoks'un" S Katkılanmış Nano-TiO_2 ile Fotokatalitik Parçalanması ve Yıkım ara Ürünlerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, *İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Malatya.

Altinok, I. (2004). Toxicity and therapeutic effects of Chloramine-T for treating *Flavobacterium columnare* infection of goldfish. *Aquaculture*, 239(1-4), 47-56.

Altinok, I., & Capkin, E. (2007). Histopathology of rainbow trout exposed to sublethal concentrations of methiocarb or endosulfan. *Toxicologic Pathology*, 35(3), 405-410.

Américo-Pinheiro, J. H. P., Machado, A. A., da Cruz, C., Aguiar, M. M., Ferreira, L. F. R., Torres, N. H., & Machado-Neto, J. G. (2020). Histological changes in targeted organs of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to sublethal concentrations of the pesticide Carbofuran. *Water Air and Soil Pollution*, 231, 228.

APHA. (1992). Standart Metods for the Examination of Water and Wastwater, ISBN 0-87553-207-1, 18th Edition.

Arellano, J. M., Ortiz, J. B., Da Silva, D. C., De Canales, M. G., Sarasquete, C., & Blasco, J. (1999). Levels of copper, zinc, manganese and iron in two fish species from salt marshes of Cadiz Bay (southwest Iberian Peninsula). *Boletín del Instituto Español de Oceanografía*, 15(1), 485-488.

Arias, M., Bonetto, C., & Mugni, H. (2020). Sublethal effects on *Simocephalus vetulus* (Cladocera: Daphnidae) of pulse exposures of cypermethrin. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 196, 110546.

Arnold, H., Pluta, H. J., & Braunbeck, T. (1996). Cytological alterations in the liver of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* after prolonged exposure to low concentrations of waterborne endosulfan. *Diseases of aquatic organisms*, 25(1-2), 39-52.

Arslan, H. (2015). Pestisit Sinerjisinin; Gökkuşağı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Yüzme Performansı, Biyokimyasal Hematolojik, Histopatolojik ve Genotoksik Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*. Erzurum.

Atamanalp, M., & Solak, K. (2014). Üç Farklı Çiftlikte Yetiştirilen Gökkuşağı Alabalıkları *Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792 nın Toplam Kolesterol ve Kolesterol Tiplerinin Karşılaştırılması. *Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 24, 41-48.

Atamanalp, M., Keleş, M. S., Haliloğlu, H. İ. & Aras, M. S. (2002). The effects of cypermethrin (a synthetic pyrethroid) on some biochemical parameters (Ca, P, Na ve TP) of rainbow trout (*O. mykiss*). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 26, 1157-1160.

Batista, S. (2003) Exposição da água subterrânea a pesticidas e nitratos em ecossistemas agrícolas do Ribatejo e Oeste e da Beira Litoral. Lisboa.

Battaglin, W. A., Kolpin, D. W., Scribner, E. A., Kuivila, K. M., & Sandstrom, M. W. (2005). Glyphosate, other herbicides, and transformation products in midwestern streams. *Journal of the American Water Resources Association*, 41(2), 323-332.

Bentinck-Smith, J., Beleau, M. H., Waterstrat, P., Tucker, C. S., Stiles, F., Bowser, P. R., & Brown, L. A. (1987). Biochemical reference ranges for commercially reared channel catfish. *The Progressive Fish-Culturist*, 49(2), 108-114.

Boran, H., & Şaffak, S. (2018). Comparison of dissolved nickel and nickel nanoparticles toxicity in larval zebrafish in terms of gene expression and DNA damage. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 74(1), 193-202.

Boran, H., & Terzi, S. (2019). Bis (2-ethylhexyl) phthalate induces DNA strand breaks and gene expression alterations in larval zebrafish *Danio rerio*. *Toxicology and Industrial Health*, 35(8), 520-529.

Boran, H., & Ulutas, G. (2016). Genotoxic effects and gene expression changes in larval zebrafish after exposure to $ZnCl_2$ and ZnO nanoparticles. *Diseases of Aquatic Organisms*, 117(3), 205-214.

Borges, A., Scotti, L. V., Siqueira, D. R., Zanini, R., do Amaral, F., Jurinitz, D. F., & Wassermann, G. F. (2007). Changes in hematological and serum biochemical values in jundiá *Rhamdia quelen* due to sub-lethal toxicity of cypermethrin. *Chemosphere*, 69(6), 920-926.

Botta, F., Lavison, G., Couturier, G., Alliot, F., Moreau-Guigon, E., Fauchon, N., & Blanchoud, H. (2009). Transfer of glyphosate and its degradate AMPA to surface waters through urban sewerage systems. *Chemosphere*, 77(1), 133-139.

Braunbeck, T., & Appelbaum, S. (1999). Ultrastructural alterations in the liver and intestine of carp *Cyprinus carpio* induced orally by ultra-low doses of endosulfan. *Diseases of Aquatic Organisms*, 36(3), 183-200.

Brown, M. D., Thomas, D., & Kay, B. H. (1998). Acute toxicity of selected pesticides to the Pacific blue-eye, *Pseudomugil signifer* (Pisces). *Journal of the American Mosquito Control Association*, 14,4, 463-466.

Burkepile, D. E., Moore, M. T., & Holland, M. M. (2000). Susceptibility of five nontarget organisms to aqueous diazinon exposure. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 64(1), 114-121.

Çakıcı, H. (1999). Farklı İşletmelerde Yetiştirilen Gökkuşağı Alabalığının (*O. mykiss* Walbaum) Kan Özelliklerinin Karşılaştırılmalı Olarak Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, *Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Çanakkale.

Camargo, M. M., & Martinez, C. B. (2007). Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in an urban stream. *Neotropical Ichthyology*, 5(3), 327-336.

Capkin, E., & Altinok, I. (2013). Effects of chronic carbosulfan exposure on liver antioxidant enzyme activities in rainbow trout. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 36(1), 80-87.

Champe, P. C., Harvey, R. A., & Ferrier, D. R. (2005). *Biochemistry*. Lippincott Williams & Wilkins.

Chang, J., Liu, S., Zhou, S., Wang, M., & Zhu, G. (2013). Effects of butachlor on reproduction and hormone levels in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65(1-2), 205-209.

Coelho, S., Oliveira, R., Pereira, S., Musso, C., Domingues, I., Bhujel, R. C., & Nogueira, A. J. (2011). Assessing lethal and sub-lethal effects of trichlorfon on different trophic levels. *Aquatic Toxicology*, 103(3-4), 191-198.

Coupe, R. H., Kalkhoff, S. J., Capel, P. D., & Gregoire, C. (2012). Fate and transport of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters of agricultural basins. *Pest Management Science*, 68(1), 16-30.

CPMP. (2000). Committee for Proprietary Medicinal Products, The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products: Evaluation of Medicines for Human Use. Note for Guidance on Repeated Dose Toxicity. CPMW/SWP/1042/99, 1-9.

D'Costa, A. H., Shyama, S. K., Kumar, M. P., & Fernandes, T. M. (2018). Induction of DNA damage in the peripheral blood of zebrafish (*Danio rerio*) by an agricultural organophosphate pesticide, monocrotophos. *International Aquatic Research*, 10(3), 243-251.

Das, B. K., & Mukherjee, S. C. (2003). Toxicity of cypermethrin in *Labeo rohita* fingerlings: biochemical, enzymatic and haematological consequences. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 134(1), 109-121.

David, M., Mushigeri, S. B., Shivakumar, R., & Philip, G. H. (2004). Response of *Cyprinus carpio* (Linn) to sublethal concentration of cypermethrin: alterations in protein metabolic profiles. *Chemosphere*, 56(4), 347-352.

Devi, Y., & Mishra, A. (2013). Histopathological Alterations in Gill and Liver Anotomy of Fresh Water, Air Breathing Fish Channa Punctatus after Pesticide Hilban®(Chlorpyrifos) Treatment. *Advances in Bioresearch*, 4(2), 57-62.

Dhadialla, T. S., Carlson, G. R., & Le, D. P. (1998). New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Annual Review of Entomology*, 43(1), 545-569.

Doğan, D. (2011). Dimethoate Uygulamasının *Oncorhynchus mykiss*'te Biyokimyasal ve Hematolojik Parametrelere Etkileri ile DNA Hasarının ve Endokrin Bozucu Potansiyelinin Araştırılması. Doktora Tezi, *Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,* Gaziantep.

Donaldson, E. M. 1981. The pituitary–interrenal axis as indicator of stress in fish. In: Pickering, A.D. (Ed.), Stress and Fish. Academic Press, London, UK, 11-47.

DPT. (2001). Devlet Planlama Teşkilatı, Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı, Kimya Sanayi Özel İhtisas Komisyonu Raporu, Tarım İlaçları Alt Komisyonu Raporu, *ISBN 975.19.2737-4,* Ankara.

Dzieciolowska, S., Larroque, A. L., Kranjec, E. A., Drapeau, P., & Samarut, E. (2017). The larvicide pyriproxyfen blamed during the Zika virus outbreak does not cause microcephaly in zebrafish embryos. *Scientific reports*, *7*(1), 1-11.

EPA. (1993). Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms, U.S. Environmental Protection

Agency, Office of Research and Development, Washington D.C., EPA/600/4-90/027F.

EPA. (2003). Pesticide Product Information System, U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Washington D.C

Eya, J. C., & Love1, R. T. (1997). Available phosphorus requirements channel catfish (*Ictalurus punctatus*) diets in ponds. *Aquaculture*, 154, 283-291.

Fan, Y., Miao, W., Lai, K., Huang, W., Song, R., & Li, Q. X. (2018). Developmental toxicity and inhibition of the fungicide hymexazol to melanin biosynthesis in zebrafish embryos. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 147, 139-144.

FAO. (1981). Manual of Methods in Aquatic Environment Research, Part 7, Selected Bioassays for The Mediterranean, Fisheries Technical Paper No:208, Roma.

FAO. (1982). Manual of Methods in Aquatic Environment Research, Part 6, Toxicity Tests, Fisheries Technical Paper No:183, Roma.

FAO. (1987). Manual of Methods in Aquatic Environment, Parth 10, Shotterm Static Bioassays, Fisheries Technical Paper Number: 247, Roma.

FAOSTAT. (2020). Food and agriculture data by FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations).

Farah, M. A., Ateeq, B., Ali, M. N., Sabir, R., & Ahmad, W. (2004). Studies on lethal concentrations and toxicity stress of some xenobiotics on aquatic organisms. *Chemosphere*, 55(2), 257-265.

Freeman, B. A., & Crapo, J. D. (1982). Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Laboratory Investigation; A Journal of Technical Methods and Pathology*, 47(5), 412.-426.

Gil, F., & Pla, A. (2001). Biomarkers as biological indicators of xenobiotic exposure. *Journal of Applied Toxicology*, 21(4), 245-255.

Gräslund, S., & Bengtsson, B. E. (2001). Chemicals and biological products used in south-east Asian shrimp farming, and their potential impact on the environment-a review. *Science of the Total Environment*, 280(1-3), 93-131.

Grichar, W. J., Dotray, P. A., & Sestak, D. C. (1999). Diclosulam for weed control in Texas peanut. *Peanut Science*, 26(1), 23-28.

Halliwell, B., Hoult, J. R., & Blake, D. R. (1988). Oxidants, inflammation, and anti-inflammatory drugs. *The FASEB Journal*, 2(13), 2867-2873.

Halpern, B. S., Walbridge, S., Selkoe, K. A., Kappel, C. V., Micheli, F., D'Agrosa, C., & Fujita, R. (2008). A global map of human impact on marine ecosystems. *Science*, 319(5865), 948-952.

Hamel, K. (2012). Environmental Impact Statement for Penoxsulam, Imazamox, Bispyribac-sodium, Flumioxazin, & Carfentrazone-ethyl, (27-40) Water Quality Program Washington State Department of Ecology Olympia, Washington.

Hayes, W. J., & Laws, E. R. (1990). Classes o f Pesticides. Handbook of Pesticide Toxicology, 3, Academic Press, New York.

Ismail, M., Ali, R., Shahid, M., Khan, M. A., Zubair, M., Ali, T., & Mahmood Khan, Q. (2018). Genotoxic and hematological effects of chlorpyrifos exposure on freshwater fish *Labeo rohita*. *Drug and Chemical Toxicology*, 41(1), 22-26.

Jin, J., Kurobe, T., Ramírez-Duarte, W. F., Bolotaolo, M. B., Lam, C. H., Pandey, P. K., & Lin, L. (2018). Sub-lethal effects of herbicides penoxsulam, imazamox, fluridone and glyphosate on Delta Smelt (*Hypomesus transpacificus*). *Aquatic Toxicology*, 197, 79-88.

John, P. J. (2007). Alteration of certain blood parameters of freshwater teleost *Mystus vittatus* after chronic exposure to metasystox and sevin. *Fish Physiology and Biochemistry*, 33, 15-20.

Jyothi, B., & Narayan, G. (1999). Certain pesticide-induced carbohydrate metabolic disorders in the serum of freshwater fish *Clarias batrachus* Linn. *Food and Chemical Toxicology*, 37, 417-421.

Kanburoğlu Çebi, Ü., Özcan, C., Gürbüz, M. A., & Özer, S. (2017). Trakya bölgesi'nde ayçiçeği tarımında kullanılan imazamox herbisit'inin toprak ortamında kalıntı düzeylerinin izlenmesi ve değerlendirilmesi. *Toprak Su Dergisi*, 6(2), 32-39.

Kaneko, J. J., Harvey, J. W., & Bruss, M. L. (1997). Clinical biochemistry of domestic animals. (5th ed.), Academic Press, San Diego, California, USA.

Karim, A., Ali, W., Ahmad, N., Irfan, M., & Shakir, H. A. (2016). Histological and biochemical study of liver of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) after acute exposure to pyrethoride (deltamethrin). *Punjab University Journal of Zoology*, 31, 229-236.

Klauning, J. E. (2000). Pesticide Toxicology, Evaluating Safety and Risk, Purdue Pesticide Programs, Purdue University Cooperative Extension Service, PPP-40, Indiana University School of Medicine.

Kolpin, D. W., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Thurman, E. M., Zaugg, S. D., & Barber, L. B. (2002). Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999-2000: a national reconnaissance. *Environmental Science & Technology*, 3(6), 1202-1211.

Lasee, B. A. (1995). Introduction to Fish Healt Management, U.S. Fish and Wildlife Service La Crosse Fish Healt Center 555, Lester Avenue Onalaska, Wisconsin, 54650.

Laufer, B., & Nation, P. (1999). Vocabulary-Size Test of Controlled Productive Ability, *Language Testing*, 16, 36-55.

Leblond, V. S., Bisson, M., & Hontela, A. (2001). Inhibition of cortisol secretion in dispersed head kidney cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by endosulfan, an organochlorine pesticide. *General and Comparative Endocrinology*, 121(1), 48-56.

LeNoir, J. S., McConnell, L. L., Fellers, G. M., Cahill, T. M., & Seiber, J. N. (1999). Summertime transport o f current-use pesticides from California's Central V alley to the Sierra Nevada Mountain Range, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18, 2715-2722.

Lin, Y. S., Gong, R. Z., & Zhu, Z. L. (2000). In: Pesticide and Ecoenvironmental Protection. Chemical & Technologies Publish House, *Beijing*, 14-15.

Loomis, T. A. (1978). Essentials of Toxicology, 3rd edition, Philadelphia, *Lea and Febiger*, 157-232.

Mandal, P. K., & Kulshrestha, A. K. (1980). Histopathological changes induced by the sub-lethal sumithion in *Clarias batrachus* (Linn.). *Indian Journal of Experimental Biology*, 18(5), 547-552.

Marques, C. (2009) Estudo do efeito de pesticidas em organismos não-alvo. Universidade de Aveiro, Aveiro.

Moura, J. A., & Souza-Santos, L. P. (2020). Environmental risk assessment (ERA) of pyriproxyfen in non-target aquatic organisms. *Aquatic Toxicology*, 105448.

Myresiotis, C. K., Karaoglanidis, G. S., Vryzas, Z., & Papadopoulou-Mourkidou, E. (2012). Evaluation of plant-growth-promoting rhizobacteria, acibenzolar-S-methyl and hymexazol for integrated control of *Fusarium* crown and root rot on tomato. *Pest Management Science*, 68(3), 404-411.

Nataraj, B., Hemalatha, D., Rangasamy, B., Maharajan, K., & Ramesh, M. (2017). Hepatic oxidative stress, genotoxicity and histopathological alteration in fresh

water fish *Labeo rohita* exposed to organophosphorus pesticide profenofos. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *12*, 185-190.

Neff, J. M. (1985). Use of biochemical measurements to detect pollutant-mediated damage to fish. In R.D. Cardwel, R. Purdy & R.C. Bahner (Eds), Aquatic toxicology and hazard assessment. Philadelphia. *American Society for Testing Materials,* 155-181.

Nešković, N. K., Poleksić, V., Elezović, I., Karan, V., & Budimir, M. (1996). Biochemical and histopathological effects of glyphosate on carp, *Cyprinus carpio* L. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 56(2), 295-302.

Nieves-Puigdoller, K., Björnsson, B. T., & McCormick, S. D. (2007). Effects of hexazinone and atrazine on the physiology and endocrinology of smolt development in Atlantic salmon. *Aquatic Toxicology*, 84(1), 27-37.

Nogales, B., Lanfranconi, M. P., Piña-Villalonga, J. M., & Bosch, R. (2011). Anthropogenic perturbations in marine microbial communities. *FEMS Microbiology reviews*, 35(2), 275-298.

Norris, D. O., Felt, S. B., Woodling, J. D., & Dores, R. M. (1997). Immunocytochemical and histological differences in the interrenal axis of feral brown trout, *Salmo trutta*, in metal-contaminated waters. *General and Comparative Endocrinology*, 108(3), 343-351.

Nowak, B. (1992). Histological changes in gills induced by residues of endosulfan. *Aquatic Toxicology*, 23(1), 65-83.

OECD. (1992). Organization for Economic Cooperation and Development, Guideline for The Testing of Chemicals: Fish, Acute Toxicity Test, No: 203.

Ortiz, J. B., De Canales, M. L. G., & Sarasquete, C. (2003). Histopathological changes induced by lindane (?-HCH) in various organs of fishes. *Scientia Marina*, 67(1), 53-61.

Özden, Z. (2016). Çıldır Gölünde Avlanan Havuz Balığı (*Carassius gibelio* Bloch, 1782) Üzerine Cypermethrin'in Etkilerinin Histopatolojik, Genotoksik, Elektroforetik ve Biyokimyasal Yöntemlerle Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,* Kars.

Pandey, A. K., Nagpure, N. S., & Trivedi, S. P. (2018). Genotoxicity assessment of pesticide profenofos in freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch) using comet assay and random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Chemosphere*, 211, 316-323.

Payne, P., & Williams, G. (1990). Hymexazol treatment of sugar-beet seed to control seedling disease caused by *Pythium* spp. and *Aphanomyces cochlioides. Crop Protection,* 9(5), 371-377.

Pfenning, M., Palfay, G., & Guillet, T. (2008). The CLEARFIELD® technology–A new broad-spectrum post-emergence weed control system for European sunflower growers. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 21, 649-654.

Plumb, J. A. (1999). Health Maintenance and Principal Microbial Diseases of Cultured Fishes, Iowa State University Press, Ames, IO, Oxford, 328 s.

Prusty, A. K., Kohli, M. P. S., Sahu, N. P., Pal, A. K., Saharan, N., Mohapatra, S. & Gupta, S. K. (2011). Effect of short term exposure of fenvalerate on biochemical and haematological responses in *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings. *Pesticide Biochemistry and Physiology,* 100, 124-129.

Raibeemol, K. P., & Chitra, K. C. (2020). Induction of immunological, hormonal and histological alterations after sublethal exposure of chlorpyrifos in the freshwater fish, *Pseudetroplus maculatus* (Bloch, 1795). *Fish & Shellfish Immunology,* 102, 1-12.

Ramasamy, P. K., Jeyaraaj, R., David, A.J., & Ramaswamy, M. (2007). Toxicity o f an organophosphorus pesticide, Quinalphos to the catfish, *Mystus vittatus*. *Journal of Ecotoxicology and Environmental Monitoring*, 17(4), 391-396.

Reichenberger, S., Bach, M., Skitschak, A., & Frede, H. G. (2007). Mitigation strategies to reduce pesticide inputs into ground and surface water and their effectiveness; A review. *Science of the Total Environment*, 384, 1-35

Salaberria, I., Hansen, B. H., Asensio, V., Olsvik, P. A., Andersen, R. A., & Jenssen, B. M. (2009). Effects of atrazine on hepatic metabolism and endocrine homeostasis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicology and Applied Pharmacology*, 234, 98-106.

Salbego, J., Seben, D., Sippert, L. R., Gressler, L. T., Arruda da Cunha, J., Zanella, R., & Golombieski, J. I. (2020). Toxicological response of silver catfish (*Rhamdia quelen*) after acute exposure to a commercial insecticide containing thiamethoxam. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 55(8), 749-755.

Sancho, E., Ceron, J. J., & Ferrveo, M. D. (2000). Cholinesterase activity ve hematological parameters as biomarkers of sublethal molinate exposure in *Anguilla anguilla*. *Ecotoxicology and Environmental Safety,* 46, 81-86.

Saratovskikh, E. A. (2003). Complexation with ATP as a cause of pollutants toxicity to aquatic life. *Journal of Environmental Protection*, 4, 585-594.

Satyanarayan, S., Kotangale, A.S., & Verma, S. (2012). Histopathological changes due to some chlorinated hydrocarbons pesticides in the tissues to *Cyprinus carpio*. *IOSR Journal of Pharmacy*, 60-66.

Saunders, L. E., & Pezeshki, R. (2015). Sublethal effects of environmentally relevant run-off concentrations of glyphosate in the root zone of *Ludwigia peploides* (creeping water primrose) and *Polygonum hydropiperoides* (smartweed). *Weed Biology and Management*, 14, 242-250.

Saygı, Ş., Deniz, G., Kutsal, O., Vural, N. (1991). Chronic Effect of Cadmium on Kidney, Liver, Testes and Fertility of Male Rats. *Biological Trace Element Research,* 31, 209-214.

Sevinç, Z. (2017). Su Kirliliğinin Gökkuşağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın Oksidatif Stres, Genotoksisite ve Besin Kalitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, *Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Isparta.

Singh, H. S., & Reddy, T. V. (1990). Effect of copper sulfate on hematology, blood chemistry, and hepato-somatic index of an Indian catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch), and its recovery. *Ecotoxicology and Environmental Safety,* 20(1), 30-35.

Singh, N. P., McCoy, M. T., Tice, R. R., & Schneider, E. L. (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research,* 175(1), 184-191.

Sönmez, A. Y., Hisar, O., Karataş, M., Arslan, G. & Aras, M. S. (2008). Sular Bilgisi. Nobel Yayın Dağıtım, 1. Baskı, Ankara.

Souders, C. L., Xavier, P., Perez-Rodriguez, V., Ector, N., Zhang, J. L., & Martyniuk, C. J. (2019). Sub-lethal effects of the triazole fungicide propiconazole on zebrafish (*Danio rerio*) development, oxidative respiration, and larval locomotor activity. *Neurotoxicology and Teratology,* 74, 106809.

Srivastava, A. S., Oohara, I., Suzuki, T., Shenouda, S., Singh, S. N., Chauhan, D. P., & Carrier, E. (2004). Purification and properties of cytosolic alanine aminotransferase from the liver of two freshwater fish, *Clarias batrachus* and *Labeo rohita*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 137(2), 197-207.

Sullivan, J. J., & Goh, K. S. (2008). Environmental fate and properties of pyriproxyfen. *Journal of Pesticide Science*, 33(4), 339-350.

Tan, S., Evans, R., & Singh, B. (2006). Herbicidal inhibitors of amino acid biosynthesis and herbicide-tolerant crops. *Amino Acids*, 30(2), 195-204.

Terzi, E., & Verep, B. (2012). Effects of water hardness and temperature on the acute toxicity of mercuric chloride on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicology and Industrial Health*, 28(6), 499-504.

Thompson, D. G., Wojtaszek, B. F., Staznik, B., Chartrand, D. T., & Stephenson, G. R. (2004). Chemical and biomonitoring to assess potential acute effects o f V ision herbicide on native am phibian larvae in forest wetlands. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23, 843-849.

Tilak, K. S., Veeraiah, K., & Yacobu, K. (2001). Studies on histopathological changes in the gill, liver and kidney of *Ctenopharyngodon idellus* (Valenciennes) exposed to technical fenvalerate and EC 20%. *Pollution Research*, 20, 387-393.

Tonguthai, K. (2000). The use of chemicals in aquaculture in Thailand. In Use of Chemicals in Aquaculture in Asia: Proceedings of the Meeting on the Use of Chemicals in Aquaculture in Asia 20-22 May 1996, Tigbauan, Iloilo, Philippines, 207-220.

Truong, L., Gonnerman, G., Simonich, M. T., & Tanguay, R. L. (2016). Assessment of the developmental and neurotoxicity of the mosquito control larvicide pyriproxyfen using embryonic zebrafish. *Environmental Pollution*, 218, 1089-1093.

Tsao, P., & Guy, S. (1977). Inhibition of *Mortierella* and *Pythium* in a Phytophthora-isolation medium containing hymexazol. *Phytopathology*, 67(6), 796-801.

Uguz, C., Iscan, M., Erguven, A., Isgor, B., & Togan, I. (2003). The bioaccumulation of nonyphenol and its adverse effect on the liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental Research.* 92, 262-270.

Ullah, S., & Zorriehzahra, M. J. (2015). Ecotoxicology: a review of pesticides induced toxicity in fish. *Advances in Animal and Veterinary Sciences,* 3(1), 40-57.

Ünsal, M. (1998). Kirlilik Deneyleri-Yöntemler ve Sonuçların Değerlendirilmesi-T.C. Tarım ve Orman Köyişleri Bakanlığı Bodrum Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Yay. No: 11, 168s.

URL 1. http://www.safatarim.com/PDF/Documents/400-ramox-ultra-ramox-ultra---brosur.pdf. Erişim Tarihi; 05/12/2020

Velisek, J., Stara, A., Machova, J., & Svobodova, Z. (2012). Effects of long term exposure to simazine in real concentrations on common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety,* 76, 79-86.

Velmurugan, B., Selvanayagam, M., Cengiz, E. I., & Unlu, E. (2007). Histopathology of lambda-cyhalothrin on tissues (gill, kidney, liver and intestine) of *Cirrhinus mrigala*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 24(3), 286-291.

Vural, N. (1996). Toksikoloji, A.Ü. Ecz. F. Yayınları No: 73, Ankara, A.Ü. Basımevi, 1-20.

Walker, C.H., & Fivingstone, D.R. (1992). Persistent Pollutants in Marine Ecosystems. Pergam on Press, Oxford, 272.

WHO. (2006). Specifications and Evaluations for Public Health Pesticides, Pyriproxyfen World Health Organization, pp. 1–19 Technical Material. WHO Specification 715/TC, 2006.

WHO. (2008). Guidelines for Drinking-water Quality, 3rd ed. (including first and second addenda).

WHO. (2014). Pesticide residues in food, 2014.

WHO. (2019). The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification, 2019.

Yang, J. L., & Chen, H. C. (2003). Effects of gallium on common carp (*Cyprinus carpio*): acute test, serum biochemistry, and erythrocyte morphology. *Chemosphere*, 53, 877-882.

Zhang, Q., Zhou, H., Li, Z., Zhu, J., Zhou, C., & Zhao, M. (2016a). Effects of glyphosate at environmentally relevant concentrations on the growth of and microcystin production by *Microcystis aeruginosa*. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188(11), 1-7.

Zhang, Y., Tao, S., Yuan, C., Liu, Y., Wang, Z. (2016b). Non-monotonic dose-response effect of bisphenol a on rare minnow *Gobiocypris rarus* ovarian development. *Chemosphere* 144, 304–311.

Zhongyi, G., Jinglan, Z., Yongpan, R., Guo, Z., & Guobo, S. (2011). Studies on the effects of prochloraz and hymexazol to *Fusarium moniliforme* and *Rhizoctonia solani*. *Journal of Agriculture*, 6, 32-36.

ÖZGEÇMİŞ



Adı Soyadı	: Mabroukah Rafallah Adrees SAED
Doğum Yeri ve Yılı	: Derne/1985
Medeni Hali	: Evli
Yabancı Dili	: İngilizce
E-posta	: mohamedalharth@yahoo.com

Eğitim Durumu

Lise	: ASMA Kız Lisesi, 2000
Lisans	: Omar Al-Mukhtar Üniversitesi, 2007
Yüksek Lisans	: Kastamonu Üniversitesi, 2018-Devam Ediyor

Mesleki Deneyim

İş Yeri	: Omar Al-Mukhtar Üniversitesi, 2013-Devam Ediyor