

**TRİCHLORFON UYGULANAN PULLU SAZAN (*Cyprinus  
carpio*)’DA ASETİLKOLİNESTERAZ (AChE) ENZİM  
AKTİVİTESİ VE BAZI KAN PARAMETRELERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Ayşegül PALA**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı  
Danışman: Prof. Dr. Naim SAĞLAM**

**Ocak-2013**

T.C  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TRİCHLORFON UYGULANAN PULLU SAZAN (*Cyprinus carpio*)’DA  
ASETİLKOLİNESTERAZ (AChE) ENZİM AKTİVİTESİ VE BAZI KAN  
PARAMETRELERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ayşegül PALA

(Enstitü No: 091128103)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 25 Aralık 2012

Tezin Savunulduğu Tarih: 10 Ocak 2013

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Naim SAĞLAM (F.Ü)

Diğer Jüri Üyeleri: Prof. Dr. Mustafa SARIEYYÜPOĞLU (F.Ü)

Prof. Dr. Metin ÇALTA (F.Ü)

Ocak-2013

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans çalışmalarım sırasında çalışmanın her aşamasında bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Naim SAĞLAM'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans öğrenimim boyunca yardım ve desteklerinden dolayı Yrd. Doç. Dr. Muhammet Enis YONAR'a, çalışmamın deneysel aşamasında elinden gelen yardımı esirgemeyen kıymetli arkadaşlarım Su Ürünleri Mühendisi Abdulselam GÜN'e ve Su Ürünleri Yüksek Mühendisi Mücahit YÜNGÜL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca yüksek lisans çalışmalarım boyunca manevi desteklerini benden esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Arş. Gör. Nermin KARATON KUZGUN, Arş. Gör. Ebru ÖZER ve Su Ürünleri Yüksek Mühendisi Fatma AYDIN'a teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi, tez çalışmam süresince yanımda olup beni destekleyen sevgili babam Hasan SEVİM, annem Nimet SEVİM ve sevgili eşim Yavuz Suat PALA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamı SÜF.11.02 numaralı proje ile destekleyen Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

**Ayşegül PALA**  
**ELAZIĞ -2013**

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                                | <u>Sayfa No</u> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| ÖNSÖZ .....                                                                                    | I               |
| İÇİNDEKİLER.....                                                                               | II              |
| ÖZET .....                                                                                     | V               |
| ŞEKİLLER LİSTESİ .....                                                                         | VII             |
| TABLolar LİSTESİ .....                                                                         | IX              |
| 1. GİRİŞ.....                                                                                  | 1               |
| 1.1. Pestisitlerin Sınıflandırılması .....                                                     | 3               |
| 1.1.1 Organofosfatlı Pestisitler .....                                                         | 3               |
| 1.1.1.1 Trichlorfon .....                                                                      | 5               |
| 1.2. Asetilkolinesteraz (AChE) .....                                                           | 5               |
| 1.3. Balıklarda Hematopoetik Sistem .....                                                      | 7               |
| 1.4. Pullu Sazan ( <i>Cyprinus carpio</i> ).....                                               | 9               |
| 2. MATERYAL METOT .....                                                                        | 10              |
| 2.1. Materyal .....                                                                            | 10              |
| 2.1.1. Balık ve Akvaryumlar .....                                                              | 10              |
| 2.1.2. Trichlorfon .....                                                                       | 11              |
| 2.1.3. Araştırmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Araç-Gereçler.....                          | 11              |
| 2.2. Metot .....                                                                               | 13              |
| 2.2.1. Trichlorfon'un <i>C. carpio</i> üzerindeki LC <sub>50</sub> değerinin belirlenmesi..... | 13              |
| 2.2.2. Balıklara Trichlorfon'un Sublethal Konsantrasyonunun Uygulanması..                      | 14              |
| 2.2.3. Kan, Beyin ve Karaciğer Örneklerinin Alınması .....                                     | 14              |
| 2.2.4. Beyin ve Karaciğer Homojenatlarının Hazırlanması.....                                   | 15              |
| 2.2.5. AChE Aktivitesinin Belirlenmesi .....                                                   | 16              |

|                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.2.5.1. AChE Aktivitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Ayıraçlar ..... | 16 |
| 2.2.5.2. AChE Aktivitesinin Belirlenmesi Yöntemi .....                 | 16 |
| 2.2.5.3. AChE Aktivitesinin Hesaplanması .....                         | 17 |
| 2.2.6. Protein Düzeyinin Belirlenmesi .....                            | 17 |
| 2.2.6.1. Protein Düzeyinin Belirlenmesinde Kullanılan Ayıraçlar .....  | 18 |
| 2.2.6.2. Protein Düzeyinin Belirlenmesi Yöntemi .....                  | 18 |
| 2.2.7. Hematokrit ve Lökosit Düzeylerinin Belirlenmesi .....           | 19 |
| 2.2.8. Eritrosit ve Lökosit Düzeyleri .....                            | 19 |
| 2.2.9. Hemoglobin Düzeyi .....                                         | 20 |
| 2.2.10. Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV) .....                           | 20 |
| 2.2.11. Ortalama Eritrosit Hemoglobini (MHC) .....                     | 21 |
| 2.2.12. . Ortalama Eritrosit Hemoglobini Konsantrasyonu (MCHC) .....   | 21 |
| 2.2.13. İstatistiksel Analizler .....                                  | 21 |
| 3. BULGULAR .....                                                      | 22 |
| 3.1. Trichlorfon'un LC <sub>50</sub> değeri .....                      | 22 |
| 3.2. Trichlorfon'un Sublethal Konsantrasyonların Uygulanması .....     | 22 |
| 3.3. AChE Aktivitesindeki Değişimler .....                             | 22 |
| 3.4. Hematokrit ve Lökosit Düzeyleri .....                             | 25 |
| 3.5. Eritrosit Sayıları .....                                          | 28 |
| 3.6. Lökosit Sayıları .....                                            | 29 |
| 3.7. Hemoglobin Düzeyi .....                                           | 31 |
| 3.8. Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV) .....                              | 32 |
| 3.9. Ortalama Eritrosit Hemoglobini (MHC) .....                        | 34 |
| 3.10. Ortalama Eritrosit Hemoglobini Konsantrasyonu (MCHC) .....       | 35 |
| 4. TARTIŞMA .....                                                      | 38 |
| 5. SONUÇ .....                                                         | 42 |

|                          |           |
|--------------------------|-----------|
| <b>6. KAYNAKLAR.....</b> | <b>43</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>    | <b>49</b> |

## ÖZET

Bu çalışmada organofosfatlı insektisit trichlorfonun pullu sazan (*Cyprinus carpio*)'nın beyin ve karaciğer dokusundaki asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktivitesi ve bazı kan parametreleri üzerine olan etkisi araştırıldı. Trichlorfonun *Cyprinus carpio* üzerinde ki LC<sub>50</sub> değeri belirlendi ve LC<sub>50</sub> değerinin %10'u ve %20'si sublethal doz olarak balıklara 21 gün süreyle banyo tarzında uygulandı. Trichlorfonun sublethal dozları uygulanan balıklardan ve kontrol grubu balıklardan 3., 7., 14., ve 21. günlerde kan, beyin ve karaciğer örnekleri alındı. Alınan bu örneklerde, AChE aktivitesi, Hematokrit ve Lökosit düzeyleri, Eritrosit ve Lökosit sayıları, Hemogloblin miktarı, Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV), Ortalama Eritrosit Hemoglobini (MHC) ve Ortalama Eritrosit Hemogloblin Konsantrasyonu (MCHC) belirlendi.

Trichlorfon uygulanan balıkların AChE aktvitesinde azalma olduğu tespit edildi ( $p<0,05$ ). Ayrıca trichlorfon etkisine bırakılan balıklarda Hematokrit ve Lökosit düzeyleri, Eritrosit ve Lökosit sayıları, Hemogloblin miktarı, MCV, MHC ve MCHC değerleri kontrol grubu balıklarına göre düşük bulundu ( $p<0,05$ ).

**Anahtar Kelimeler:** Trichlorfon, Organofosfat, AChE, *Cyprinus carpio*.

## SUMMARY

In this study, the effects of trichlorfon, which is an organophosphate insecticide, on acetylcholinesterase (AChE) enzyme activity in brain and liver tissues and some blood parameters of scaled carp were investigated. LC<sub>50</sub> value of trichlorfon on *Cyprinus carpio* was determined and scaled carps were exposed to 10 % and 20 % sublethal concentrations of LC<sub>50</sub> value for 21 days. Blood, brain and liver samples were taken from exposed fish and control group fish, on days 3, 7, 14 and 21. AChE activity, hematocrit and leucocrit levels, erythrocyte and leukocyte counts, hemoglobin level, Mean Corpuscular Volume (MCV), Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH), and Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC) were determined from these samples taken.

It was determined that AChE activity of trichlorfon applied fish decreased significantly compared with control group ( $p < 0.05$ ). In addition, hematocrit and leucocrit levels, erythrocyte and leukocyte counts, hemoglobin level, MCV, MHC and MCHC values were lower compared to those in the control group ( $p < 0.05$ ).

**Key Words:** Trichlorfon, organophosphate, AChE, *Cyprinus carpio*.

## ŞEKİLLER LİSTESİ

|                                                                                                                                                          | <u>Sayfa no</u> |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| Şekil 1.1. Pestisitlerin ekosistemde dolaşımı .....                                                                                                      | 2               |
| Şekil 1.2. Trichlorfonun kimyasal formülü .....                                                                                                          | 5               |
| Şekil 1.3. Asetilkolin (ACh) ve Asetilkolinesteraz (AChE) döngüsü .....                                                                                  | 6               |
| Şekil 1.4. Organofosfatlı pestisitlerin, asetilkolinesteraz (AChE) üzerine etkisi .....                                                                  | 7               |
| Şekil 1.5. Pullu sazan ( <i>Cyprinus carpio</i> ).....                                                                                                   | 9               |
| Şekil 2.1. Balıkların temin edildiği yer .....                                                                                                           | 10              |
| Şekil 2.2. Denemenin yapıldığı akvaryumlar .....                                                                                                         | 11              |
| Şekil 2.3. Kan örneklerinin alınması .....                                                                                                               | 15              |
| Şekil 2.4. Süpernatantların hazırlanması .....                                                                                                           | 15              |
| Şekil 2.5. Hematokrit santrifüj .....                                                                                                                    | 19              |
| Şekil 2.6. Spektrofotometre .....                                                                                                                        | 20              |
| Şekil 3.1. Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan <i>C. carpio</i> 'nun beyin dokusundaki spesifik AChE aktivitesindeki zamana bağlı değişimler .....    | 25              |
| Şekil 3.2. Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusundaki spesifik AChE aktivitesindeki zamana bağlı değişimler .... | 25              |
| Şekil 3.3. Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan <i>C. carpio</i> 'nun hematokrit değerlerinde zamana bağlı değişimler.....                             | 27              |
| Şekil 3.4. Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan <i>C. carpio</i> 'nun eritrosit sayılarında zamana bağlı değişimler.....                               | 28              |
| Şekil 3.5 Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan <i>C. carpio</i> 'nun eritrosit sayılarında zamana bağlı değişimler.....                                | 29              |
| Şekil 3.6 Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan <i>C. carpio</i> 'nun lökosit sayılarında zamana bağlı değişimler.....                                  | 31              |

|                                                                                                                                  |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Şekil 3.7.</b> Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan <i>C. carpio</i> 'nun hemoglobin düzeyinde zamana bağlı değişimler..... | <b>32</b> |
| <b>Şekil 3.8.</b> Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan <i>C. carpio</i> 'nun MCV değerlerinde zamana bağlı değişimler. ....    | <b>34</b> |
| <b>Şekil 3.9.</b> Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan <i>C. carpio</i> 'nun MHC değerlerinde zamana bağlı değişimler. ....    | <b>35</b> |
| <b>Şekil 3.10.</b> Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan <i>C. carpio</i> 'nun MCHC değerlerinde zamana bağlı değişimler .....  | <b>37</b> |

## TABLÖLAR LİSTESİ

### Sayfa no

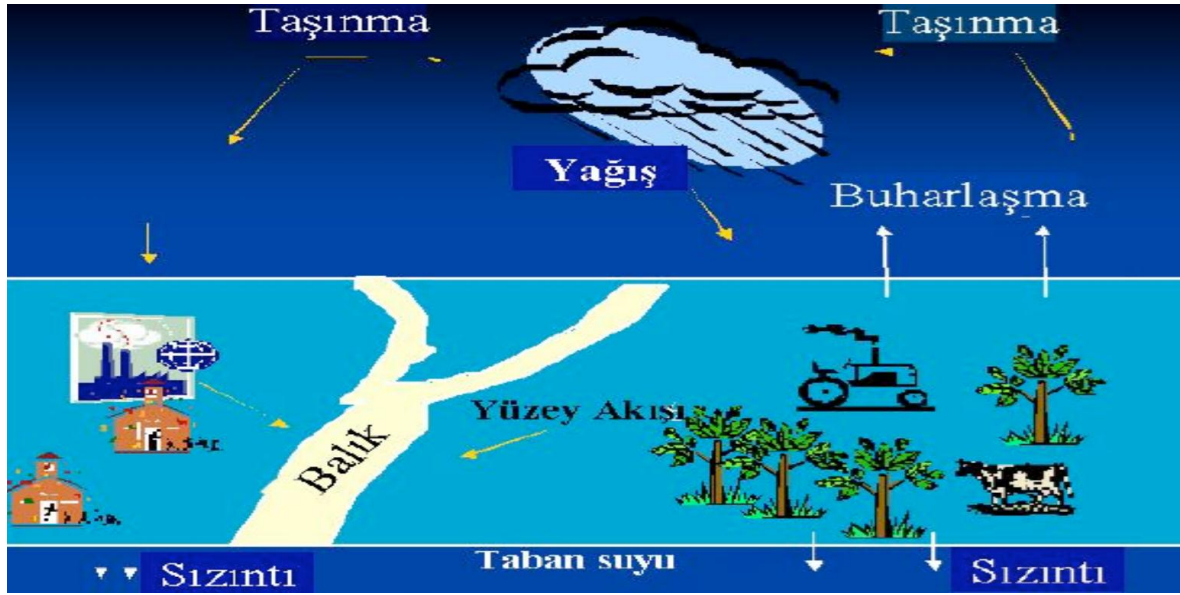
|                                                                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 2.1.</b> Araştırmada kullanılan kimyasal maddeler .....                                                                              | 12 |
| <b>Tablo 2.2.</b> Araştırmada kullanılan araç ve gereçler .....                                                                               | 13 |
| <b>Tablo 2.3.</b> Asetilkolinesteraz Yöntemi .....                                                                                            | 17 |
| <b>Tablo 2.4.</b> Protein Düzeyinin Belirlenmesi .....                                                                                        | 18 |
| <b>Tablo 3.1.</b> Trichlorfon uygulanan <i>C. carpio</i> 'nun beyin dokusundaki spesifik AChE aktivitesinde zamana bağlı değişimler .....     | 24 |
| <b>Tablo 3.2.</b> Trichlorfon uygulanan <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusundaki spesifik AChE aktivitesinde zamana bağlı değişimler ..... | 24 |
| <b>Tablo 3.3.</b> Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan <i>C. carpio</i> 'nun hematokrit değerlerinde zamana bağlı değişimler.....           | 26 |
| <b>Tablo 3.4.</b> Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan <i>C. carpio</i> 'nun lökosit değerlerinde zamana bağlı değişimler.....              | 27 |
| <b>Tablo 3.5.</b> Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan <i>C. carpio</i> 'nun eritrosit sayılarında zamana bağlı değişimler.....             | 29 |
| <b>Tablo 3.6.</b> Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan <i>C. carpio</i> 'nun lökosit sayılarında zamana bağlı değişimler.....               | 30 |
| <b>Tablo 3.7.</b> Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan <i>C. carpio</i> 'nun hemoglobin miktarında zamana bağlı değişimler .....            | 32 |
| <b>Tablo 3.8.</b> Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan <i>C. carpio</i> 'nun MCV değerinde zamana bağlı değişimler.....                     | 33 |
| <b>Tablo 3.9.</b> Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan <i>C. carpio</i> 'nun MHC değerinde zamana bağlı değişimler.....                     | 35 |
| <b>Tablo 3.10.</b> Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan <i>C. carpio</i> 'nun MCHC değerinde zamana bağlı değişimler.....                   | 36 |

## 1. GİRİŞ

Önemli bir hayvansal protein kaynağı olan su ürünleri, insanlar için beslenme değeri ve protein kalitesi bakımından çok önemli bir yere sahiptir. Bu nedenle sucul alanların kirliliği önemli bir sorun olarak görülmektedir. Pestisitlerin zararlıların kontrolünde kullanılması etkili bir metot olarak kabul edilmektedir. Ama bu kimyasallar çevredeki diğer türler için oldukça toksiktir. Hedef dışı organizmaların zehirlenmesine neden olan böyle kimyasalların kullanılması dünya çapında giderek artan bir endişedir (Rao vd., 2003).

Pestisitlerin kullanımı, tarımsal üretim, akuakültür ve toplum sağlığındaki faydalarının farkına varıldıkça günden güne artmaktadır (Atamanalp ve Yanık, 2001). Ancak tarım alanlarındaki gelişigüzel kullanımları sonucunda geniş bir alanda bıraktıkları kalıntılarla su, toprak, hava kirlenmesine neden olarak, ekolojik sistemin dengesini bozmaktadır. Böylece de ticari önemleri büyük olan balıkları da içine alan birçok hedef dışı organizma zarara uğramaktadır (Vural, vd., 1984; Oruç ve Üner, 1999).

Sucul ortamlardaki pestisit kirliliği, yağmur sularının bu bileşikleri tarımsal alanlardan sucul ortamlara taşınmasıyla olduğu kadar, pestisit spreylelerinin hava koşullarına bağlı olarak bu ortamlara taşınmasıyla da olmaktadır (Şekil 1.1). Aynı zamanda evsel ve endüstriyel uygulamalardan sonra yüzey akıntıları ve drenaj kanalları aracılığıyla nehirlerle veya göllere ulaşmakta ve sucul canlıları etkilemektedir (Karaca vd., 2005). Buralardan da besin zinciri yoluyla insana ulaşmaktadır. Ekosistemde ürün kaybına neden olan zararlı, hastalık ve yabancı otlara karşı yapılan ilaçlamalarda atılan ilacın % 0.015-% 6.0'sı hedef alınan canlı üzerine ulaşmakta ve yeterli etki alınmakta, geri kalan kısmı ise hedef olmayan organizmalara ve toprağa ya da doğal ekosisteme sürüklenmektedir (Karaca vd., 2005; Yıldız vd., 2005).



Şekil 1.1. Pestisitlerin ekosistemde dolaşımı ( Karaca vd., 2005).

Pestisitlerin zararlı etkilerinin şiddeti pestisit türüne, uygulama şekline ve tarımsal arazinin tipine bağlı olarak değişmektedir. Pestisitler, balık ve diğer sucul canlılar gibi hedef dışı organizmalarda üreme potansiyelinin azalması, ölümler, hedef olmayan organizmalarda dayanıklılık oluşması sonucu insanlara hastalık taşıyan zararlıların kontrolsüz çoğalması, ekosistemin yapısı ve tür sayılarının değişmesi gibi olumsuz etkilere yol açmaktadır (Karaca vd., 2005; Yıldız vd., 2005)

Ayrıca pestisitlerin balıkların dokularında meydana getirdikleri hasarlar, balıklarda duyarlılığa yol açarak mevsimlik ısı değişimlerine ve açlıktan gereğinden fazla etkilenmelerine neden olurlar (Toros ve Maden, 1991).

Bu çalışmada, Pullu Sazan (*Cyprinus carpio*)'a farklı yoğunluklarda uygulanan trichlorfonun asetilkolinesteraz enzimi ve bazı kan parametreleri üzerinde nasıl bir etki yaptığının öğrenilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada trichlorfonun, sazanların asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerinde etkisinin olup olmadığı incelenerek sinir sistemini nasıl etkilediğinin ortaya çıkarılması, ayrıca hematokrit ve lökosit düzeyleri, eritrosit ve lökosit sayıları, hemoglobin düzeyi, ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH), ortalama eritrosit hemoglobini konsantrasyonu (MCHC) gibi bazı kan parametreleri üzerindeki etkilerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

**Bu tez çalışması; Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi (FÜBAP) tarafından SÜF.11.02 numaralı proje olarak desteklenmiştir.**

### **1.1. Pestisitlerin Sınıflandırılması**

Besin maddelerinin üretimi, tüketimi ve depolanmaları sırasında besin değerini bozan ve besinleri yok eden, zarar veren haşereleri, mikroorganizmaları ve diğer zararlıları (pestleri) yok etmek için kullanılan kimyasal savaş maddelerine pestisitler denir. Ekonomik zehirler sınıfına giren pestisitler kimyasal yapılarına göre organoklorlular, karbamatlar, organofosfatlar ve piretroidler, etki ettikleri canlı grubuna göre ise insektisitler, herbisitler, fungusitler, mollusitler, nematositler, rodentisitler ve akarisitler olarak gruplandırılır. Öte yandan pestisitler, etkili maddelerinin kökenlerine göre inorganik, doğal organik (bitkisel maddeler ve petrol yağları vb.) ve sentetik organik (klorlu hidrokarbonlar, organik fosforlar ve diğer sentetik organik maddeler) olarak da sınıflandırılırlar (Güley ve Vural 1976; Vural, 2005).

#### **1.1.1. Organofosfatlı Pestisitler**

Organofosfat (OP)'lı bileşikler günümüzde en çok kullanılan pestisit grubu olup, kullanılmakta olan pestisitlerin %80'ninden fazlasını oluşturmaktadır (Aydın ve Köprücü, 2005; Ural ve Sağlam, 2005; Vural, 2005).

Almanya'da 1930'lu yıllarda kimyasal savaş ajanı olarak üretilen OP'lı pestisitler son derece zehirli olmalarına rağmen genellikle çevrede kalıcı değildir; güneş ışığı, hava ve toprakla temas ettiklerinde hidroliz olarak parçalanırlar. Bu nedenle dünya çapında en yaygın olarak kullanılan insektisit grubu olmuştur. OP'lı bileşikler hızlı parçalanma özellikleriyle önemli bir avantaj sağlamaktadır. Ancak hedef organizma spesifiklikleri çok düşüktür ve hedef olmayan birçok omurgalı ve omurgasızlar karşı yüksek akut toksisiteye sahiptir. Bu nedenle birçok karasal ve Sucul organizma çevredeki bu bileşiklerin etkisiyle zehirlenme riski altındadır (Fulton ve Key, 2001; Costa, 2006; O'Brien, 1967).

OP'lı pestisitler çok düşük konsantrasyonlarda, örneğin nanogram düzeyinde bile sucul omurgalı ve omurgasızlarda toksik etkiler oluşturabilirler. Özellikle balıklar OP'lı toksikantlara karşı çok duyarlıdır (Hai vd., 1997).

OP'lı pestisitlerin hepsi hidroliz olarak suda çözünebilen bileşiklere dönüşürler. Çoğu OP pestisitler yağda çözünürlüğü yüksek bileşiklerdir. Hızla vücut dokularına dağılırlar, karaciğer ve böbrekte yüksek yoğunlukta birikirler. Yağda çözünürlüğü yüksek olanlar

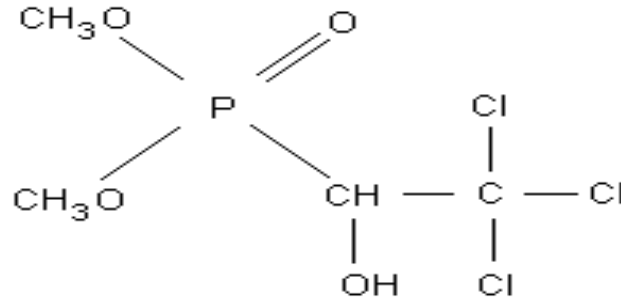
kan-beyin engelini kolaylıkla geçerler ve bu nedenle merkezi sinir sistemi üzerinde etkilidirler (Joshi vd., 2005).

Bütün OP'lı pestisitler, asetilkolinesretaz (AChE) inhibisyonuna neden olan nörotoksikantlardır (Aytuğ vd., 1976; Güley ve Vural 1976; Kirby vd., 2000; Traves-Brown, 2000; Chandrasekara ve Pathiratne, 2005; Vural, 2005). En önemli özellikleri hedef enzim niteliğindeki kolinesteraz enzimiyle yapısal bütünleşmeye giderek enzimi inhibe etmeleridir. Bunlar kolinesteraz enziminin substratı olan asetilkolini taklit ederler. Böylelikle canlılarda sinirsel uyarıların taşınmasını engellerler (O'Brien, 1969; Çakır ve Sarıkaya, 2004; Çakır ve Yamanel, 2005). OP'lı pestisit diazinon'un *Micropterus solmaides* (Pan ve Dutta, 1998) ve *Lepomis macrochirus* (Dutta vd., 1992)'un beyin dokusunda AChE inhibisyonuna neden olduğu belirtilmiştir. Malathion etkisinde *Brachydanio rerio* (Ansari ve Kumar, 1984) ve *Channa punctatus*'da beyin dokusunda (İnbaraj ve Haider, 1998), *Tilapia mossambica*'da ise beyin, karaciğer, kas ve solungaç dokusunda AChE'nin önemli derecede inhibe olduğu bildirilmiştir. Fenitrothion'un *Anguilla Anguilla*'da beyin dokusunda AChE aktivitesinde konsantrasyona ve süreye bağlı olarak AChE inhibisyonuna neden olduğu saptanmıştır (Sancho vd., 1998). Diğer OP'lı pestisitlerden, methidathion'un *C. carpio*'da karaciğer ve beyin dokusunda AChE aktivitesinde %80-90 oranında düşüşe yol açtığı bildirilmiştir (Rodriguez-Fuentes vd., 2000).

Ayrıca organofosfatlı insektisitler eritrositlerin membran özelliklerini değiştirerek eritrosit fonksiyonun engellemektedir (Shakoori vd., 1991). Organofosfatlı insektisitlerin balıkların hematolojik parametreleri üzerine etkisini araştıran birçok çalışma vardır; Benli ve Gülen (2009), Fenitrothion'un 96 saat süreyle 5 µg/L, 50 µg/L ve 100 µg/L'lik konsantrasyonlarının etkisinde kalan *Tilapia (Oreochromis niloticus)*'nin hematokrit değerlerinde azalma olduğunu bildirmişlerdir. Mishra ve Srivastava (1983), *Heteropneustes fossilis*'te malathionun 2, 6, 12, 48 ve 96 saat süreyle 7.60 ppm etkisinde, hemtokrit değerinde ve hemoglobinin miktarında önemli derecede azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Diazinonun 32,5 mg/l'lik konsantrasyonuna 96 saat süreyle bırakılan *C. carpio*'nun eritrosit sayısı, hemoglobinin düzeyi ve hematokrit değerinin kontrol grubuna göre azaldığı belirlenmiştir (Svoboda vd., 2003).

#### 1.1.1.1 Trichlorfon

Trichlorfon,  $C_4H_8Cl_3O_4P$  kimyasal formülüne sahip (Şekil 1.2), OP'lı bir pestisittir. En çok kullanılan bileşiklerden biri olan trichlorfon orta derecede toksiktir. Normal kullanım koşullarında çok hızlı bir şekilde diklorvos formuna hidrolize olur. Diklorvos çok daha toksiktir ve balık, yengeç ve karides gibi hedef dışı organizmalar için potansiyel bir tehdittir (Traves-Brown, 2000; Chang, 2006; Guimaraes vd., 2007).



**Şekil 1.2.** Trichlorfonun kimyasal formülü

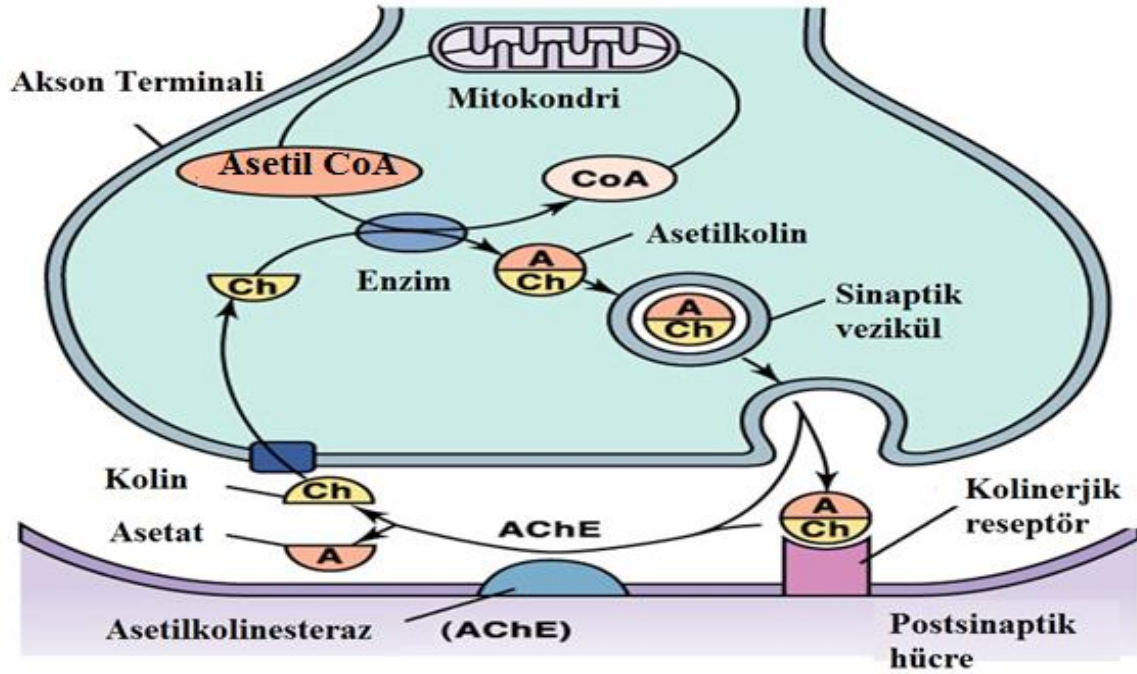
Trichlorfon tarım alanlarındaki uygulamalardan sonra topraktan sızarak veya aşınan toprak ile sürüklenerek doğal sulara karışmaktadır. Kültür balıkçılığında Monogenea ve Arthropoların yol açtığı paraziter hastalıkların kontrolünde kullanılan trichlorfon, balığa banyo ya da oral yolla uygulanmaktadır. Suyu karışan ve balıklara banyo yöntemiyle uygulanan trichlorfon balıkların deri ve solungaçlarında absorbe edilerek balık vücuduna geçmekte letal ve subletal etkilere yol açmaktadır (Guimaraes vd., 2007) . Trichlorfon etkisinde kalan *Oreochromis niloticus*'un kas dokusunda (Guimaraes vd., 2007), diklorvos uygulanan *T. mossambica*'nın ise beyin ve karaciğer dokusunun (Rath ve Misra, 1981) AChE aktivitesinde önemli derecede azalma meydana geldiği tespit edilmiştir.

#### 1.2. Asetilkolinesteraz (AChE)

Asetilkolin (ACh), balıkların sinir ve nöromuskular sistemlerindeki başlıca nörotransmitterdir (Payne vd., 1996; Kirby vd., 2000). ACh'nin kolin ve asetata hidrolizini

katalizleyen enzime ise AChE denir (Aksoy, 1982; Ganong, 1995; Vale, 1998; Noyan, 2008).

Nörotransmitter madde bir uyarılmış sinir hücresinden sinaps içerisine salınarak sonraki sinir hücresinin reseptör bölgesine bağlanıp sinir impulsunun diğer hücreye geçmesine neden olur. Bir sonraki impulstan önce ACh, AChE tarafından hidrolize edilmesi gerekir. ACh hidrolize edilmesiyle asetat ve kolin meydana gelir (Şekil 1.3). İşte bu enzimin aktivitesini bozan maddeler sinir impuls iletiminin bozulmasına ve bunu takiben belli fonksiyonların aksamasına neden olurlar (Vural, 1984; Lehninger vd., 1993; Noyan, 2008).

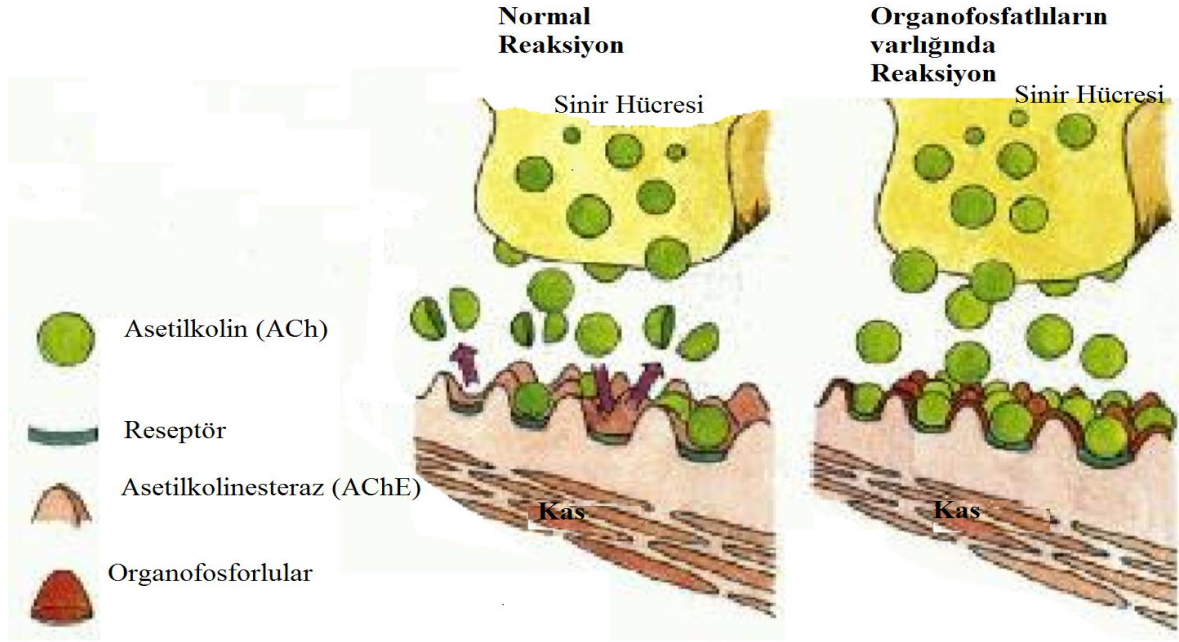


Şekil 1.3. Asetilkolin (ACh) ve Asetilkolinesteraz (AChE) döngüsü (URL- 1, 2012).

AChE aktivitesi OP'lı insektisit kirliliğinin ölçümünde yüksek spesifiteye sahip bir biyobelirteçtir (Kirby vd., 2000; Torre vd., 2002; Feng vd., 2007).

OP'lı bileşikler, canlılarda toksisite mekanizmalarını, ilk olarak, AChE'yi inhibisyona uğratarak(Şekil 1.4) gerçekleştirmektedir (Güley ve Vural, 1976; Vural, 1984). İnhibisyon, enzimin aktif bölgesi ile OP'lı insektisit arasında kurulan kovalent bağ sonucunda nörotransmitterin doğal katabolizmasının engellenmesiyle gerçekleşir (Barr ve Needham, 2002). İnhibisyona bağlı olarak sinapslarda aşırı ACh birikimi sonucunda, nikotinik ve muskarinik reseptörlerin aktivasyonları artar ve kolinerjik sistem sürekli

uyarılır (Güley ve Vural, 1976; Vural, 1984; Hazarika vd., 2003). Sinir ve kas liflerinin aşırı uyarılması tetani, felç ve sonuçta ölüme neden olabilir (Kirby vd., 2000). AChE enzimi başlıca beyinde, sinir hücrelerinde, kasta ve eritrositlerde bulunur.



**Şekil 1.4.** Organofosfatlı pestisitlerin, asetilkolinesteraz (AChE) üzerine etkisi (URL- 1, 2012).

### 1.3.Balıklarda Hematopoetik Sistem

Balıkların kanı, yapı olarak, diğer omurgalılarınkinden farklı olmamakla beraber miktar olarak değişebilmektedir. Balıklarda, genellikle omurgalılara göre daha az miktarda kan vardır. Ortalama kan miktarları 2-4 ml/100g balık ağırlığı olmakla beraber daha fazla olabilmektedir. Petromyzontidae’lerde 8,5 ml/100g, Myxinidae’lerde 17 ml/100g, Elasmobranchi’lerde 6-8 ml/100g, Salmon’larda 5-7 ml/100g balık ağırlığı olduğu belirlenmiştir (Timur 2008). Diğer omurgalılarda olduğu gibi, balıklarda kan, kan hücreleriyle plazmadan oluşur. Berrak bir sıvı olan plazmanın içinde kan hücrelerinden ayrı olarak erimiş halde anorganik iyonlar, kan proteinleri, glikoz, lipoitler, amino asitler, vitaminler, atılacak maddeler, erimiş gazlar ve enzimler bulunur (Demir, 2006; Timur, 2008).

Balıklarda kan yapımı çeşitli organlarda gerçekleşir. Eritrositler, balıkların çoğunda temel olarak böbrek ve dalakta şekillenirler. Lökositler, kemikli balıkların çoğunda böbrekte oluşmakla beraber kıkırdaklı balıklarda bu görevi özel leydin organı yüklenmiştir. Bu organ genellikle sindirim borusunun çeperiyle ilişkilidir ve özofagus

boyunca bulunur. Diğer balıklarda mezenterium, orbita (göz çukurları), meninks ve kraniyum'un tabanı gibi çeşitli yerlerde benzeri doku bulunabilir. Bazı türlerde dalakta trombositler oluşur (Demir, 2006; Timur, 2008).

Balıkların kan hücreleri eritrosit (alyuvar)'ler, lökosit (akyuvar)'ler ve trombositler olmak üzere, başlıca üç tiptir. Eritrositler, karakteristik renklerini, renksiz olan protein globin ve demir kapsayan kırmızı-sarı pigment "hem"den oluşan hemoglobinden alırlar. Bazı türlerde birden fazla hemoglobin tipi bulunmaktadır. Alyuvarlar, diğer hücrelere oranla balık kanında en fazla sayıda bulunan kan hücresi olup en önemli görevleri içerdikleri hemoglobin sayesinde solungaçlardan dokulara O<sub>2</sub> ve dokulardan solungaçlara CO<sub>2</sub> taşımalarıdır. Alyuvarların %33'ünü oluşturan ve bir solunum pigmenti olan hemoglobin O<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub> taşıma dışında kan pH'nın sabit tutulmasında tampon görevi de yapmaktadır. Balık kanında hemoglobin konsantrasyonu g/100ml olarak ifade edilir ve genellikle 7-10 g/100ml arasındadır. Hematokrit kan hücreleri hacminin kan hacmine oranıdır. Anemi, polistemi durumlarını belirlemek için hematokrit değeri saptanır. Hematokrit değer, plazma hacmine ve alyuvar büyüklüğüne bağlıdır. Alyuvarlar ve dolayısıyla hematokrit ve hemoglobin konsantrasyonu mevsime, ısıya ve balığın sağlığına göre değişir (Yılmaz, 1984; Yiğit, 2001; Demir, 2006;; Timur, 2008; Başusta Girgin, 2010).

Akyuvarlar, vücudun hastalıklara karşı önemli bir savunma mekanizmasını oluşturmaktadır. Akyuvarlar, alyuvarlar kadar fazla olmayıp genellikle balıkların çoğunda mm<sup>3</sup> 'te 150.000'den azdır. Bir türde bile sayıları oldukça büyük farklılıklar gösterir. Örneğin sazanda (*Cyprinus carpio*) sayılarının 32.000 ile 146.000 arasında değiştiği bildirilmiştir (Noyan, 2008; Timur, 2008).

Hematoloji balık bilimi ile ilgili olarak balıkların ekolojik, fizyolojik durumlarının belirlenmesinin yanı sıra su ortamlarında hızla artan pestisit kaynaklı kirlenmenin balıklar üzerindeki stres düzeyini belirlemede de yararlanılan bir bilim dalıdır (Azizoğlu ve Cengizler 1996; Atamanalp vd., 2003 a).

Balıkların hematolojik parametreleri balık yetiştiriciliğinde balıkların fiziksel durumlarının belirlenmesinde, stres ve hastalıkların kontrolünde yaygın olarak kullanılmakta ve çevre şartlarındaki değişikliklere kısa sürede cevap verdiğiinden dolayı toksikolojik çalışmalarda yaygınlaşarak faydalanılmaktadır. Bu parametreler organizmanın klinik statüsü hakkında önemli bilgiler sağlamaktadır (Atamanalp vd., 2003 b).

#### 1.4. Pullu sazan (*Cyprinus carpio*)

Dünyadaki balık familyaları içerisinde en fazla türe sahip olan familyalar sazangiller (*Cyprinidae*)’dir. Bu familyanın en karakteristik türü *Cyprinus carpio* dünyada en çok üretilen ve yetiştiricilikte alabalıktan sonra dünyada en geniş dağılım alanına sahip tatlı su türüdür (Şekil 1. 5). Ülkemizde Ege, Marmara, Karadeniz, İç Anadolu ve Doğu Anadolu’nun büyük bir kısmına yayılmıştır (Çelikkale, 2002).

Ilıman bölgelerde sıcak sularda yaşasa da sıcaklığın 1 °C'ye düştüğü sularda bile yaşamını devam ettirebilen türlerdir. Sıcaklığın 4-30 °C arasında olduğu ortamlara kolaylıkla adapte olabilen sazanın en iyi geliştiği sıcaklık 24-26 °C’dir. Yüksek adaptasyon yeteneği, yetiştiricilik şartlarına kolay uyumunun yanında, sazanı yetiştiricilikte bu kadar öne çıkaran özelliği beslenme alışkanlığıdır. Herbivor beslenen sazanlar bitkisel proteinleri hayvansal proteinlere çevirerek insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir (Çelikkale, 2002).



Şekil 1.5. Pullu sazan (*Cyprinus carpio*) (Orijinal).

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1. Materyal

#### 2.1.1. Balık ve Akvaryumlar

Araştırmanın materyali olan pullu sazanlar (*Cyprinus carpio*) DSİ IX. Bölge Müdürlüğü Keban Su Ürünleri Şube Müdürlüğü'nden temin edilerek (Şekil 2.1), Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları Laboratuvarına canlı olarak getirildi. Araştırmada  $102 \pm 4,15$ g ağırlığında,  $17,1 \pm 1,2$  cm uzunluğunda toplam 430 adet pullu sazan kullanıldı. Deneysel çalışma başlamadan önce balıklar laboratuvardaki havuzlarda 20 gün süreyle tutularak adaptasyonları sağlandı. Adaptasyon süresi boyunca balıklar günde iki kez ticari bir yem ile beslendi. Çalışmada 80x30x40 cm boyutlarında 80 litrelik cam akvaryumlar kullanıldı. Temizlenen akvaryumlar merkezi havalandırma sistemiyle havalandırıldı (Şekil 2.2).



Şekil 2.1. Pullu sazanların temin edildiği yer (Orijinal).



**Şekil 2.2.** Denemenin yapıldığı akvaryumlar (Orijinal).

### **2.1.2. Trichlorfon**

Çalışmada hayvanlarda ektoparazitlerin kontrolünde kullanılan ve %75 oranında trichlorfon içeren Neguvon'un suda çözünen toz formülasyonu kullanıldı. Trichlorfon, zirayi ilaçlar satan bir işletmeden satın alındı.

### **2.1.3. Araştırmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Araç-Gereçler**

Araştırmada kullanılan kimyasal maddeler Tablo 2.1'de, kullanılan araç ve gereçler ise Tablo 2.2 'de verilmiştir.

**Tablo 2.1.** Araştırmada kullanılan kimyasal maddeler

---

Benzokain Ethyl-4-aminobenzoat

Asetilkolin iodide

5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid)

Etopropazin

Disodyum hidrojen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )

Sodyum sülfat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )

Monopotasyum fosfat ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )

Sodyum Klorür

Methyle violet

Sodyum bikarbonat

Potasyum siyanid (KCN)

Potasyum ferrisiyanid [ $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ]

Sodyum dihidrojen fosfat

Sodyum hidrojen fosfat

Bakır sülfat

Sodyum potasyum tartarat

Sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )

Folin-Ciocalteu

---

**Tablo 2.2.** Araştırmada kullanılan araç ve gereçler

---

|                                             |
|---------------------------------------------|
| Balon joje (5, 10, 25, 50 ml)               |
| Beher (25, 50 100 ml)                       |
| Erlen (25, 50, 100, 250 ml)                 |
| Cam Tüp (16x100mm)                          |
| Hematokrit kapillar tüp                     |
| EDTA'lı tüp                                 |
| Eritrosit pipeti                            |
| Lökosit pipeti                              |
| Thoma lamı                                  |
| Spektro küveti (kuvartz)                    |
| Mikro pipet (10-100, 100-1000 µl)           |
| Mavi ve sarı pipet ucu                      |
| Muayene eldiveni                            |
| Hassas terazi (0.01g ve 0.001 hassasiyetli) |
| -20°C soğutucu                              |
| Homojenizatör                               |
| Distile su cihazı                           |
| Manyetik karıştırıcı                        |
| Vorteks                                     |
| Hematokrit santrifüj                        |
| Soğutmalı santrifüj                         |
| Benmari                                     |
| Spektrofotometre                            |

---

## 2.2. Metot

### 2.2.1. Trichlorfon'un *C. carpio* üzerindeki LC<sub>50</sub> değerin belirlenmesi

Trichlorfonun pullu sazan (*Cyprinus carpio*) üzerindeki Letal Konsantrasyonun (LC<sub>50</sub>) belirlenmesinde OECD (1999) tarafınan hazırlanmış olan balık akut toksisite testleri kılavuzundan yararlanıldı.

Deney gruplarının oluşturulabilmesi için her biri 10 adet balık içeren dokuz adet 80 L'lik akvaryum hazırlandı. Bu akvaryumlardan biri kontrol grubu olarak seçildi ve klorsuz çeşme suyuyla dolduruldu. Neguvon'un (%75 trichlorfon içeren) balıklara uygulanacak olan konsantrasyonları (12,5 mg/L, 25 mg/L, 37,5 mg/L, 50 mg/L, 67,5 mg/L, 75 mg/L, 100 mg/L ve 125 mg/L) 80 L için hesaplanıp, hassas terazide tartıldı ve suda çözündürülerek belirlenen akvaryumlara eklendi. Kullanılan suyun sıcaklığı, pH değeri ve oksijen doygunluk düzeyi günlük olarak düzenli bir şekilde ölçüldü. Trichlorfon'un *C. carpio* üzerindeki LC<sub>50</sub> değerini belirlemek üzere denemeler üç tekrarlı yapıldı.

Balıkların genel durumu 24., 48., 72. ve 96. saatler sonunda kontrol edildi. SPSS 12 paket programda probit analizi kullanılarak trichlorfonun pullu sazan üzerindeki LC<sub>50</sub> değeri belirlendi.

### 2.2.2. Balıklara Trichlorfon'un Subletal Konsantrasyonlarının Uygulanması

LC<sub>50</sub> değerinin belirlenmesinden sonra her biri 30 balık içeren 80 L'lik 3 farklı akvaryum hazırlandı. Bu akvaryumlardan biri kontrol grubu olarak seçildi ve klorsuz çeşme suyuyla dolduruldu. Diğer iki akvaryuma ise probit analizi ile belirlenen trichlorfonun LC<sub>50</sub> değerinin %10'u (D1; 6,1988 mg/L) ve %20'si (D2; 12,3977 mg/L) olacak şekilde 80 L için hesaplanan miktarları tartıldı ve suda eritilerek akvaryumlara eklendi. Trichlorfonun subletal konsantrasyonları balıklara 21 gün süreyle uygulandı. Deneme süresi boyunca trichlorfon uygulanan akvaryumların solüsyonları iki günde bir yenilendi ve balıklar günde bir kez ticari bir yem ile beslendi.

### 2.2.3. Kan, Beyin ve Karaciğer Örneklerinin Alınması

Denemenin 3., 7., 14., ve 21. günleri sonunda, trichlorfon uygulanan gruplar ile kontrol grubu balıklardan kan, beyin ve karaciğer örnekleri alındı. Benzokain ile anestezi edilen balıkların, kuyruk yüzgeci kesilerek kaudal vena'dan kan örnekleri EDTA'lı tüplere

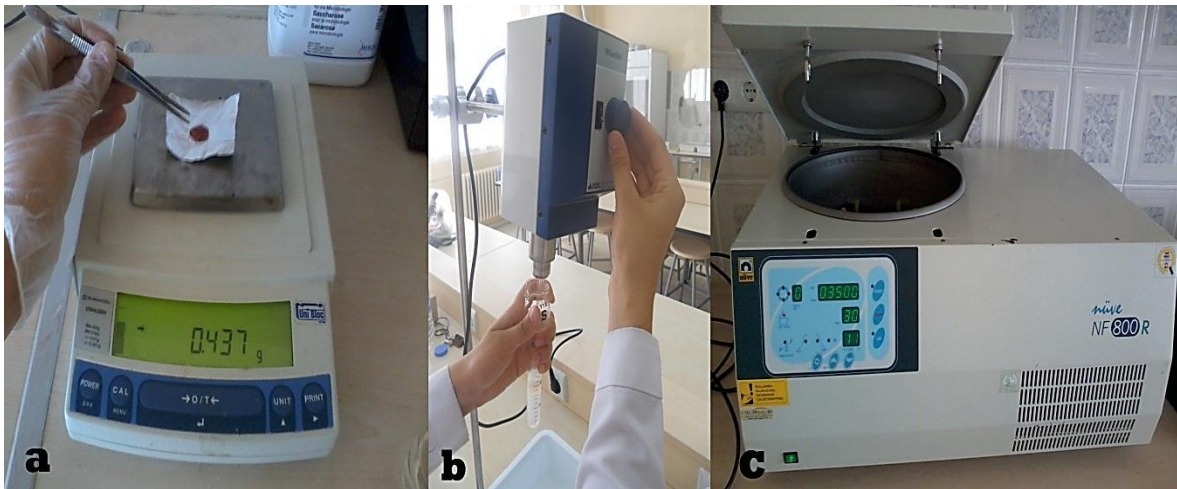
alındı (Şekil 2.3). Kan örneklerinin alınmasının ardından otopsi yapılarak (Arda vd., 2005), beyin ve karaciğer örnekleri alındı. Kan örnekleri hemen işlenirken, beyin ve karaciğer dokuları folyoya sarılarak analizler yapılana kadar -20°C de saklandı.



**Şekil 2.3.** Kan örneklerinin alınması. **a.** Kan örneklerinin EDTA'lı tüplere alınması. **b.** Kan örneklerinin hematokrit tüplere alınması (Orjinal).

#### 2.2.4. Beyin ve Karaciğer Homojenatlarının Hazırlanması

Beyin ve karaciğer dokularından 0,5 gram tartıldı (Şekil 2.4.a) ve 1/10 ağırlık/hacim (w/v) oranında, 0.25 M süktroz içeren, pH 7,4 olan 0.05 M sodyum-fosfat tamponu ile sulandırılarak homojenize edildi (Şekil 2.4.b). Homojenatlar soğutmalı santrifüjde 3500 rpm'de +4°C'de 30 dakika santrifüjlendikten (Şekil 2.4.c) sonra süpernatantlar alındı. Süpernatantlar balıklarda protein düzeyi ve AChE aktivitesinin belirlenmesi için kullanıldı.



**Şekil 2.4.** Süpernatantların hazırlanması. **a.** dokuların tartılması, **b.** homojenizasyon işlemi, **c.** santrifüj işlemi (Orijinal).

### **2.2.5. Asetilkolinesteraz (AChE) Aktivitesinin Belirlenmesi**

AChE, asetiltiyokolinin tiyokolin ile asetata parçalanması reaksiyonunu katalizleyen bir enzimdir. AChE aktivitesi, tiyokolin ile 5,5' ditiyo-bis (2- Nitrobenzoik asit) (DTNB) arasındaki reaksiyonun sonucunda oluşan 5-tiyo-2-nitrobenzoik asitin verdiği sarı rengin yoğunluğunun, 412 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçülmesiyle belirlendi (Ellman vd., 1961).

#### **2.2.5.1.AChE Aktivitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Ayıraçlar**

1. 0.1 M Na-K Fosfat Tamponu (pH8.0)
2. 0.1 M Na-K Fosfat Tamponu (pH 7.0)
3. 0.01 M DTNB
4.  $8.52 \times 10^{-3}$  M Etopropazin (BChE inhibitörü, günlük olarak hazırlandı)
5. 0.0015 M Asetilkolinyodür (günlük olarak hazırlandı)

#### **2.2.5.2. AChE Aktivitesinin Belirlenmesi Yöntemi**

AChE aktivitesini ölçmek için yukarıda sıralanmış olan ayıraçlar kör ve örnek küvetlerine Tablo 2.3'deki sıraya göre ilave edildi. Kör ve örnek tüplerine öncelikle süpernatantan 200 µl alınarak bırakıldı. Her iki tüpe 100 µl DTNB ilavesi yapıldıktan sonra, kör tüpünün içine 2700 µl 0,1 M pH 8,0 fosfat tamponu koyularak 3000µl'lik bir karışım elde edildi. Örnek tüpüne ise 50 µl  $8,52 \times 10^{-3}$  M Etopropazin, ve 2550µl fosfat tamponu ilave edildi. Bu haliyle kör ve örnek karışımları 30 °C'de 5 dakika inkübe edildi.

İnkübasyonu takiben örnek karışımını içine 100 µl 0,015M Asetilkolinyodür ilave edilerek kör ve örnek numuneleri 412 nm dalga boyunda 0. ve 5. Dakikadaki absorbansları okundu.

**Tablo 2.3.** Asetilkolinesteraz Yöntemi

| Çözelti ve Ayıraçlar                          | Kör (µl) | Örnek (µl) |
|-----------------------------------------------|----------|------------|
| Fosfat tamponu<br>(0,1M, pH 8,0)              | 2700     | 2550       |
| Örnek                                         | 200      | 200        |
| DTNB (0,01M)<br>(0,1M, pH 7,0 Na-K<br>Fosfat) | 100      | 100        |
| Etopropazin<br>(8,52x10 <sup>-3</sup> M)      | ----     | 50         |
| Çalkalanır ve 30 C’de 5dk inkübe edilir.      |          |            |
| Asetilkoliniyodür<br>(0,015M)                 | ----     | 100        |
| TOPLAM                                        | 3000     | 3000       |

**2.2.5.3. AChE Aktivitesinin Hesaplanması**

Elde edilen absorbans değerleri aşağıdaki formülde kullanılarak AChE aktivitesi hesaplandı.

$$\text{AChE Aktivitesi U/mL} = \frac{\Delta D}{t} \times \frac{V_t}{V_o} \times 13,6$$

Belirlenen AChE aktivitesi ve protein düzeyi aşağıdaki formülde yerlerine koyularak spesifik AChE aktivitesi belirlendi.

Spesifik AChE Aktivitesi U/mg protein = AChE Aktivitesi/Protein Düzeyi

$\Delta D$  = 5. ve 0. dakikalar arasındaki absorbans farkı

t = Zaman

V<sub>t</sub> = Toplam hacim

V<sub>o</sub> = Örnek hacmi

**2.2.6. Protein Düzeyinin Belirlenmesi**

Beyin ve karaciğer dokularındaki protein düzeyleri AChE spesifik enzim aktivitesini hesaplamak amacıyla çalışıldı. Protein düzeyinin belirlenmesinde bluret yöntemi kullanıldı (Lowry, 1951).

### 2.2.6.1. Protein Düzeyinin Belirlenmesinde Kullanılan Ayıraçlar

1. Alkali  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  çözeltisi
2. Bakır sülfat-Sodyum potasyum tartarat çözeltisi  
%1  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$   
%2 Na-K tartarat

Kullanılacağı zaman bu çözeltiler eşit hacimde karıştırılarak hazırlandı.

3. Alkali çözelti (Günlük olarak hazırlandı.): 50 mL alkali  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  çözeltisi 1mL bakır sülfat-Sodyum potasyum tartarat çözeltisi ile karıştırılarak hazırlandı.
4. Folin-Ciocalteu ayırıcı: 1 mL Folin-Ciocalteu 1.5 mL saf su olacak şekilde hazırlandı.

### 2.2.6.2. Protein Düzeyinin Belirlenmesi Yöntemi

Beyin süpernatantları 1/50, karaciğer süpernatantları ise 1/200 oranında saf suyla sulandırıldı. Ve analizde örnek olarak, sulandırılan doku süpernatantları kullanıldı. Dokulardaki protein miktarını ölçmek için hazırlanan çözeltilerden kör ve örnek küvetinin içine 0,5ml alkali bakır çözeltisi koyulup, kör küvetine 0,5ml safsu, örnek küvetine ise 0,5ml sulandırılmış doku süpernatantından ilave edildi ve çalkalanarak oda sıcaklığında 10 dakika beklemeye bırakıldı. Sonra her iki tüpün içine 2 ml Folin-Ciocalteu ilave edilip çalkalandı ve benmaride 55 °C’de 5 dakika inkübe edildi (Tablo 2.4). Bu işlemlerden sonra örnekler ve kör 650 nm dalga boyunda havaya karşı spektrofotometrede okundu. Elde edilmiş olan örnek absorbans değerleri sulandırma oranları da dikkate alınarak, aşağıda verilen formül yardımıyla hesaplanarak dokuların protein değerleri belirlendi.

**Tablo 2.4.** Protein düzeyinin belirlenmesi

| Çözeltiler                                       | Kör (ml) | Örnek (ml) |
|--------------------------------------------------|----------|------------|
| Örnek                                            | -        | 0,5ml      |
| Saf su                                           | 0,5ml    | -          |
| Alkali bakır çözeltisi                           | 0,5ml    | 0,5ml      |
| Çalkalandı ve oda sıcaklığında 10 dk. bekletildi |          |            |
| Folin-Ciocalteu                                  | 2ml      | 2ml        |
| Çalkalandı ve 55° C’de 5 dk. inkübe edildi.      |          |            |

Örnek ve kör kuvvetlerinin 650 nm dalga boyunda havaya karşı absorbansları okundu. Daha sonra okunan örnek absorbansları ve dokuların sulandırılma oranları aşağıdaki formül kullanılarak dokuların protein düzeyleri belirlendi

$$\text{Protein düzeyi} = 0,4 \times \text{Okunan absorbans değeri} \times \text{Sulandırma oranı}$$

### 2.2.7. Hematokrit ve Lökosit Düzeyleri

Farklı konsantrasyonlardaki trichlorfonun uygulandığı balıklar ile kontrol grubu balıkların kuyruk yüzgeçleri kesilerek elde edilen kanlardan heparinli hematokrit kapillar tüplere 2/3 oranında dolduruldu (Şekil 2.4.b). Tüpler Nüve marka hematokrit santrifüjde 12500 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi (Şekil 2.5.). Santrifüjden sonra hematokrit ve lökosit miktarı hematokrit cetvel üzerine konularak okundu ve yüzdeleri hesaplandı (Konuk 1981, Siwicki ve Anderson 1993).



Şekil 2.5. Hematokrit santrifüj

### 2.2.8. Eritrosit ve Lökosit Sayıları

Eritrosit pipetinin 0,5 işaretine kadar çalışmada kullanılan balıkların kanlarından, 101 işaretine kadar ise Natt-Herrick çözeltisinden çekildi. Hazırlanmış olan karışımdan bir damla hücre sayma kamerasına damlatıldı ve dağılması beklendi. Sonra beş büyük kare (80 küçük kare) içindeki eritrositler ile tüm küçük karelerdeki lökositler sayıldı. Belirlenen eritrosit sayısı 10.000 ile lökosit sayısı ise 1000 ile çarpılarak bir milimetreküp kandaki eritrosit ve lökosit miktarı belirlendi (Konuk, 1981; İmren ve Turan, 1985).

### 2.2.9. Hemoglobin Düzeyi

Trichlorfonun farklı konsantrasyonlarının uygulandığı deneme grupları ile kontrol grubu balıkların kanlarından spektrofotometre tüplerine 0,02 ml bırakıldı. Üzerine 5 ml Drabkin's solüsyonu eklendi. Karışım 10 dakika karanlıkta bekletildi ve spektrofotometrede (Şekil 2.6) 540 nm dalga boyunda okunarak hemoglobin düzeyi belirlendi (Nazıroğlu, 2001).



Şekil 2.6. Spektrofotometre

### 2.2.10. Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV)

Trichlorfon verilen balıklar ile kontrol balıklarının hematokrit değerleri belirlendikten sonra ortalama eritrosit hacmi aşağıdaki formüle göre hesaplandı (Konuk, 1981; İmren ve Turan, 1985).

$$MCV (\mu^3) = \text{Hematokrit} \times 10 / \text{mm}^3 \text{deki eritrosit sayısı}$$

### **2.2.11. Ortalama Eritrosit Hemoglobini (MCH)**

Tüm deneme grubu ve kontrol grubu balıklarının hemoglobin miktarları tespit edildikten sonra ortalama eritrosit hemoglobini aşağıdaki şekilde hesaplandı (Konuk, 1981; İmren ve Turan, 1985).

$$\text{MHC (pg)} = \text{Hemoglobin} \times 10 / \text{mm}^3 \text{deki eritrosit sayısı}$$

### **2.2.12. Ortalama Eritrosit Hemoglobini Konsantrasyonu (MCHC)**

Deneme grupları ile kontrol grubu balıklarına ait kanların eritrositlerinin 100 ml'si içinde ne kadar hemoglobin olduğunu gösteren MCHC aşağıdaki formüle göre hesaplandı (Konuk, 1981; İmren ve Turan, 1985).

$$\text{MCHC(\%)} = 100 \times \text{Hemoglobin} / \text{Hematokrit}$$

### **2.2.13. İstatistiksel Analizler**

Elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 16.0 (SPSS Inc.) paket programı kullanılarak, ANOVA tek yönlü varyans analizi, Duncan's testi uygulandı (Zar, 1984). Grafiklerin oluşturulmasında Excel 2010 programından yararlanıldı.

### 3. BULGULAR

Deneme süresince su sıcaklığı  $18 \pm 1^\circ\text{C}$ , oksijen miktarı  $5,3 \pm 1 \text{ mg/L}$  ve pH 7,4- 7,9 arasında ölçüldü. Araştırma boyunca sıcaklık, oksijen ve pH’da önemli bir değişiklik görülmedi. Deneme süresince kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan balıklarda herhangi bir ölüm meydana gelmedi.

#### 3.1. Trichlorfon’un $\text{LC}_{50}$ Değeri

Trichlorfon’un 12,5 mg/L ve 25 mg/L’lik konsantrasyonlarının etkisinde kalan balıklarda 96 saat sonunda herhangi bir etkilenme ve ölüm olmadı. Trichlorfonun diğer konsantrasyonlarının uygulandığı balıklarda yüzme aktivitelerinde yavaşlama, su yüzeyine yakın yüzme, renkte solma, titreme, çırpınma görüldü ve ilerleyen saatlerde akvaryumun tabanında solunum fonksiyonu devam eder durumda yan yatarak hareketsiz kaldıkları tespit edildi. 96 saat sonunda 37,5 mg/L trichlorfon’da 2 adet, 50 mg/ L ve 67,5 mg/ L’ de 4 adet ve 75 mg/ L’ de ise 6 adet balığın öldüğü saptandı. 100mg/ L ve 125mg/ L trichlorfonun etkisindeki balıkların ise 96 saat sonunda tamamının öldüğü gözlemlendi. Elde edilen verilerle yapılan Probit analizi sonucunda pullu sazanda (*C. carpio*) trichlorfonun  $\text{LC}_{50}$  değeri 61,98 mg/l olarak bulundu.

#### 3.2.Trichlorfonun Subletal Konsantrasyonların Uygulanması

Trichlorfonun  $\text{LC}_{50}$  değerinin %10 (D1) ve %20 (D2) sinin uygulandığı balıklarda kontrol grubuna göre yüzme aktivitesinde yavaşlama görüldü. Denemenin 3., 7., 14. ve 21. günlerinde balıklarda hareketsiz kalma, akvaryum tabanında toplanma, zaman zaman ani yüzme hareketi ve kasılmalar gözlemlendi. Trichlorfonun subletal konsantrasyonlarının uygulandığı balıklarda deneme süresince ölüm görülmezken 17. ve 21. günlerde alınan karaciğer örneklerinde rengin solduğu ve yeşilimsi kahverengi olduğu görüldü.

#### 3.3. AChE Aktivitesindeki Değişimler

*C. carpio*’da trichlorfon uygulamasının beyin ve karaciğer dokusunda spesifik AChE aktivitesi üzerine etkisi araştırıldı.

Beyin dokusundaki AChE aktivitesinde, kontrol grubuna göre denemenin 3. gününde trichlorfonun subletal konsantrasyonlarının uygulandığı D1 ve D2 grubu balıklarda sırasıyla %49 ve %50 azalma gözlenirken, karaciğerdeki AChE aktivitesinde ise sırasıyla %33 ve % 35 azalma tespit edildi.

Denemenin 3. gününde kontrol grubu ile D1 ve D2 grubu balıkların beyin ve karaciğer dokularındaki AChE aktiviteleri arasında farkın önemli olduğu saptandı ( $p<0,05$ ) (Tablo 3.1, Tablo 3.2, Şekil 3.1, Şekil 3.2).

Beyin AChE aktivitesinde denemenin 7. günde kontrol grubuna göre D1 ve D2 grubundaki balıklarda sırasıyla %51 ve %34 azalma meydana geldi. Karaciğerde ise kontrol grubuna göre AChE aktivitesinde sırasıyla %24 ve %35 azalma gözlemlendi (Tablo 3.1, Tablo 3.2, Şekil 3.1, Şekil 3.2). Denemenin 7. gününde kontrol ile D1 ve D2 grubu balıkların beyin ve karaciğer dokularındaki AChE aktiviteleri arasındaki farkın önemli olduğu belirlendi ( $p<0,05$ ).

Denemenin 14. günde beyinde AChE aktivitesinde kontrol grubuna göre D1 ve D2 grubu balıklarda sırasıyla % 11 ve % 7 azalma tespit edildi. Karaciğerde ise kontrol grubu balıklarına göre D1 ve D2 grubu balıkların AChE aktivitesinde sırasıyla %30 ve %31 oranında azalma saptandı. 14. günde kontrol grubu balıklar ile D1 ve D2 grubu balıkların beyin dokusundaki AChE aktiviteleri arasında farkın önemli olmadığı saptandı. Kontrol grubu ile trichlorfon uygulanan balıkların karaciğer dokusundaki AChE aktiviteleri arasında farkın önemli olduğu tespit edildi ( $p<0,05$ ).

Denemenin 21. gününde beyin AChE aktivitesinde kontrol grubu balıklarına göre D1 ve D2 grubu balıklarda sırasıyla %14 ve %17 azalma gözlemlendi. Karaciğerde ise kontrol grubu balıklarına göre D1 ve D2 grubu balıkların AChE aktivitesinde sırasıyla %32 ve %16 oranında azalma tespit edildi (Tablo 3.1, Tablo 3.2, Şekil 3.1, Şekil 3.2). 21. günde kontrol grubu ile D1 ve D2 grubu balıkların beyin ve karaciğer dokularındaki AChE aktiviteleri arasında farkın önemli olduğu saptandı ( $p<0,05$ ) (Tablo 3.1, Tablo 3.2).

Denemenin 3. ve 7. günlerinde kontrol grubu balıklarına göre D1 ve D2 grubundaki balıklarda beyin AChE aktivitesinde %50' ye varan azalma tespit edilirken, 14. ve 21. günlerde ise AChE aktivitesindeki azalmanın %11 - %17 arasında olduğu gözlemlendi (Tablo 3.1, Şekil 3.2).

**Tablo 3.1.** Trichlorfon uygulanan *C. carpio*'nun beyin dokusundaki spesifik AChE aktivitesinde zamana bağlı değişimler

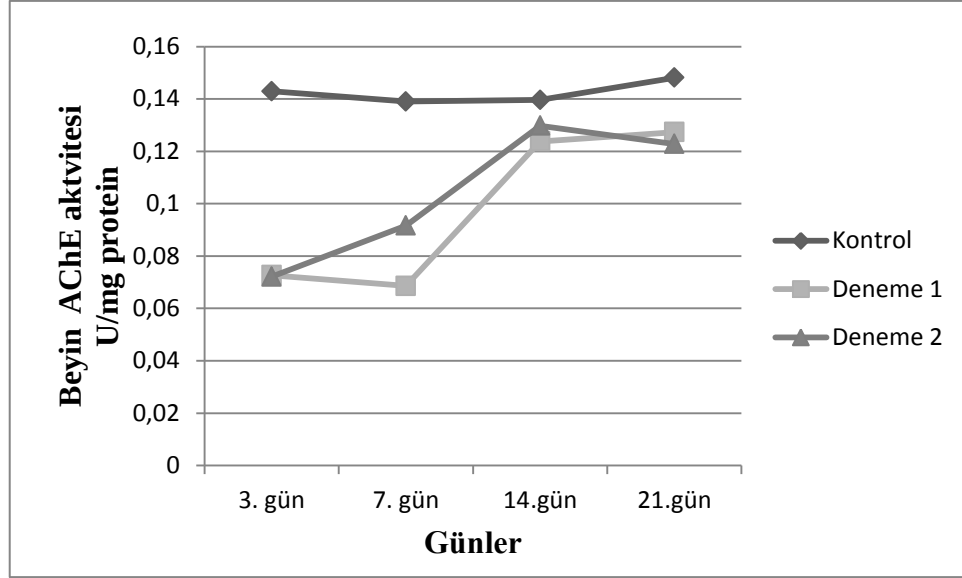
| Günler  | K<br>(U/mg protein)           | D1<br>(U/mg protein)          | D2<br>(U/mg protein)          |
|---------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 3. Gün  | 0,1429 ± 0,007 <sup>A,a</sup> | 0,0727 ± 0,014 <sup>A,b</sup> | 0,0721 ± 0,006 <sup>A,b</sup> |
| 7. Gün  | 0,1390 ± 0,018 <sup>A,a</sup> | 0,0686 ± 0,011 <sup>A,b</sup> | 0,0916 ± 0,005 <sup>B,c</sup> |
| 14. Gün | 0,1396 ± 0,025 <sup>A,a</sup> | 0,1238 ± 0,018 <sup>B,a</sup> | 0,1298 ± 0,014 <sup>C,a</sup> |
| 21. Gün | 0,1481 ± 0,020 <sup>A,a</sup> | 0,1273 ± 0,016 <sup>B,b</sup> | 0,1228 ± 0,012 <sup>C,b</sup> |

- K: kontrol grubu, D1: Trichlorfonun LC<sub>50</sub> değerinin % 10'unun uygulandığı grup, D2: Trichlorfonun LC<sub>50</sub> değerinin % 20'sinin uygulandığı grup.
- a, b, c: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır (p>0,05).
- A, B, C: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır (p>0,05).

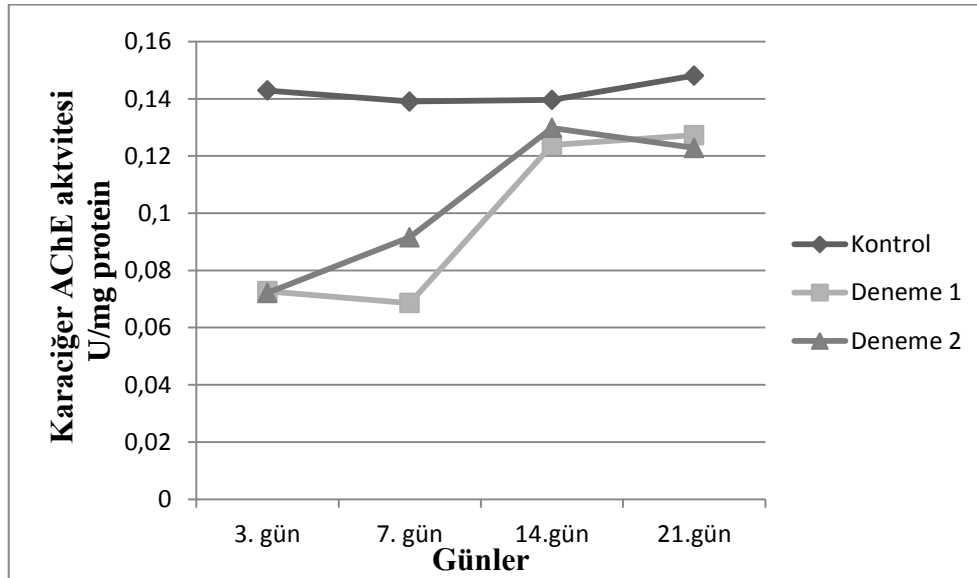
**Tablo 3.2.** Trichlorfon uygulanan *C. carpio*'nun karaciğer dokusundaki spesifik AChE aktivitesinde zamana bağlı değişimler

| Günler  | K<br>(U/mg protein)           | D1<br>(U/mg protein)          | D2<br>(U/mg protein)           |
|---------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| 3. Gün  | 0,1252±0,013 <sup>A,a</sup>   | 0,0842 ± 0,024 <sup>A,b</sup> | 0,0808 ± 0,021 <sup>A,b</sup>  |
| 7. Gün  | 0,1263 ± 0,001 <sup>A,a</sup> | 0,0966 ± 0,015 <sup>A,b</sup> | 0,0945 ± 0,007 <sup>AB,b</sup> |
| 14. Gün | 0,1187 ± 0,026 <sup>A,a</sup> | 0,0830 ± 0,012 <sup>A,b</sup> | 0,0809 ± 0,011 <sup>A,b</sup>  |
| 21. Gün | 0,1224 ± 0,027 <sup>A,a</sup> | 0,0830 ± 0,012 <sup>A,b</sup> | 0,1026 ± 0,018 <sup>B,c</sup>  |

- K: kontrol grubu, D1: Trichlorfonun LC<sub>50</sub> değerinin % 10'unun uygulandığı grup, D2: Trichlorfonun LC<sub>50</sub> değerinin % 20'sinin uygulandığı grup.
- a, b, c: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır (p>0,05).
- A, B, C: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır (p>0,05).



Şekil 3.1. Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan *C. carpio*'nun beyin dokusundaki spesifik AChE aktivitesindeki zamana bağlı değişimler



Şekil 3.2. Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan *C. carpio*'nun karaciğer dokusundaki spesifik AChE aktivitesindeki zamana bağlı değişimler

### 3.4. Hematokrit ve Lökosit Düzeyleri

Trichlorfonun subletal konsantrasyonlarının uygulandığı balıklarla kontrol grubu balıkların kuyruk yüzgrçleri kesilerek alınan kan örnekleriyle yapılan testler sonucunda hematokrit ve lökosit yüzdelerindeki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarında çalışma süresince hematokrit değerlerinin  $41,4 \pm 3,82$  ile  $46 \pm 4,20$  arasında, lökosit değerlerinin ise  $2,20 \pm 0,67$  ile  $2,30 \pm 0,61$  arasında olduğu belirlendi.

Trichlorfonun  $LC_{50}$  değerinin %10'unun uygulandığı D1 grubu balıklarda hematokrit değerin 3. günde  $42,00 \pm 4,58$  iken, 21. günde  $31,25 \pm 6,10$ 'e düştüğü tespit edildi (Tablo 3.3 ve Şekil 3.3 ). D1 grubu balıklarda lökokrit değer ise 3. günde  $1,92 \pm 0,42$  iken, bu değer 21. günde  $1,17 \pm 0,52$  olarak bulundu.

Trichlorfonun  $LC_{50}$  değerinin %20'sinin uygulandığı D2 grubu balıklarda hematokrit değerin 3. günde  $39,00 \pm 4,98$  iken, 21. günde  $28,00 \pm 2,84$  olduğu tespit edildi. Lökosit değeri ise 3. ve 21. günde sırasıyla  $1,90 \pm 0,64$  ve  $1,15 \pm 0,73$  olarak bulundu.

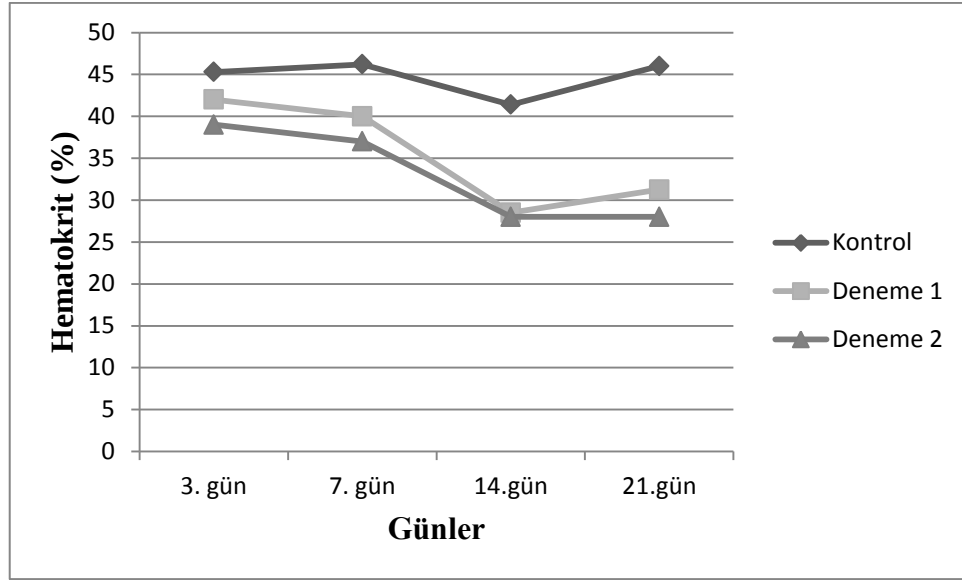
Denemenin 3. ve 7. günlerinde D1 grubundaki balıkların hematokrit değerlerinin kontrol grubundan farklı olmadığı ( $p>0,05$ ), ancak 14. ve 21. günlerde kontrol grubundan düşük olduğu tespit edildi. D2 grubundaki balıkların hematokrit değerlerinin, denemenin bütün günlerinde kontrol grubundan farklı olduğu ( $p<0,05$ ), ve bu farkın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi ( $p<0,05$ ) (Tablo 3.3, Şekil 3.3).

Denemenin 3, 7, 14 ve 21. günlerinde D1 ve D2 grubu balıkların lökokrit değerleri kontrol grubundan düşük bulundu. ( $p<0,05$ ) (Tablo 3.4, Şekil 3.4).

**Tablo 3.3.** Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan *C. carpio*'nun hematokrit değerlerindeki zamana bağlı değişimler

| Günler | K (%)                  | D1 (%)                  | D2 (%)                 |
|--------|------------------------|-------------------------|------------------------|
| 3.Gün  | $45,3 \pm 3,97^{A,a}$  | $42,00 \pm 4,58^{A,ab}$ | $39,00 \pm 4,98^{A,b}$ |
| 7.Gün  | $46,2 \pm 4,10^{A,a}$  | $40,00 \pm 3,98^{A,ab}$ | $37,00 \pm 5,02^{A,b}$ |
| 14.Gün | $41,4 \pm 3,82^{A,a}$  | $28,5 \pm 4,87^{B,b}$   | $28,00 \pm 3,85^{B,b}$ |
| 21.Gün | $46,00 \pm 4,20^{A,a}$ | $31,25 \pm 6,10^{B,b}$  | $28,00 \pm 2,84^{B,b}$ |

- K: kontrol grubu, D1: Trichlorfonun  $LC_{50}$  değerinin % 10'unun uygulandığı grup, D2: Trichlorfonun  $LC_{50}$  değerinin % 20'sinin uygulandığı grup.
- a, b, c: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ).
- A, B, C: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ).

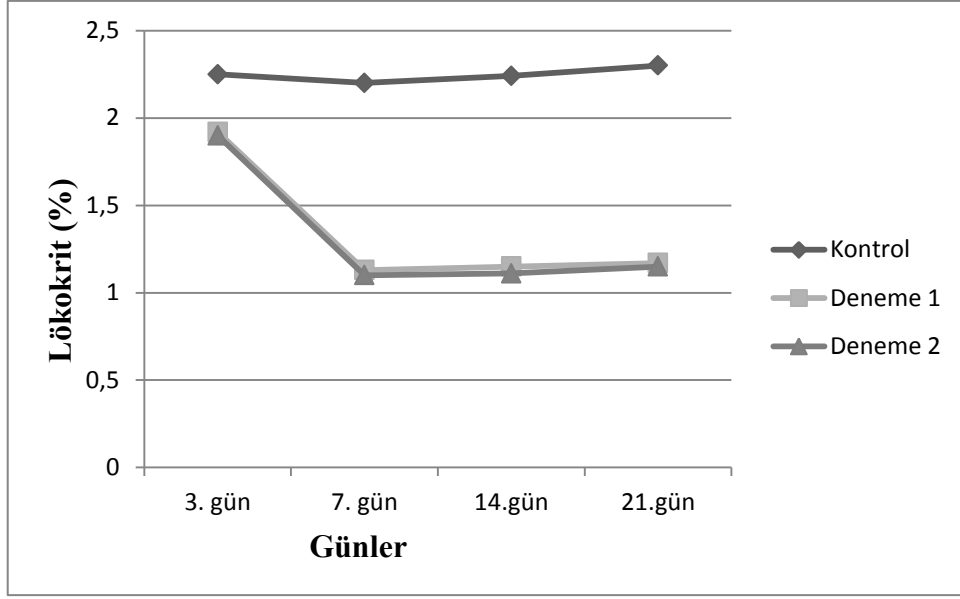


**Şekil 3.3.** Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan *C. carpio*'nun hematokrit değerlerinde zamana bağlı değişimler.

**Tablo 3.4.** Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan *C. carpio*'nun lökokrit değerlerindeki zamana bağlı değişimler.

| Günler | K<br>(%)                   | D1<br>(%)                  | D2<br>(%)                  |
|--------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 3.Gün  | 2,25 ± 0,65 <sup>A,a</sup> | 1,92 ± 0,42 <sup>A,b</sup> | 1,90 ± 0,64 <sup>A,b</sup> |
| 7.Gün  | 2,20 ± 0,67 <sup>A,a</sup> | 1,13 ± 0,57 <sup>B,b</sup> | 1,10 ± 0,61 <sup>B,b</sup> |
| 14.Gün | 2,24 ± 0,70 <sup>A,a</sup> | 1,15 ± 0,48 <sup>B,b</sup> | 1,11 ± 0,60 <sup>B,b</sup> |
| 21.Gün | 2,30 ± 0,61 <sup>A,a</sup> | 1,17 ± 0,52 <sup>B,b</sup> | 1,15 ± 0,73 <sup>B,b</sup> |

- K: kontrol grubu, D1: Trichlorfonun LC<sub>50</sub> değerinin % 10'unun uygulandığı grup, D2: Trichlorfonun LC<sub>50</sub> değerinin % 20'sinin uygulandığı grup.
- a, b, c: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır (p>0,05).
- A, B, C: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır (p>0,05).



Şekil 3. 4. Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan *C. carpio*'nun lökosit değerlerinde zamana bağlı değişimler

### 3.5. Eritrosit Sayıları

Trichlorfonun subletal konsantrasyonlarının 21 gün boyunca uygulandığı balıkların eritrosit sayılarında aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarda 3., 7., 14., ve 21. günlerde eritrosit sayısının  $1,50 \pm 0,11 \times 10^6/\text{mm}^3$  –  $1,55 \pm 0,13 \times 10^6/\text{mm}^3$  arasında olduğu belirlendi.

Trichlorfonun  $\text{LC}_{50}$  değerinin %10'unun uygulandığı D1 grubu balıklarda eritrosit sayısı 3. günde  $1,50 \pm 0,13 \times 10^6/\text{mm}^3$  iken, 21. günde bu sayı  $1,32 \pm 0,21 \times 10^6/\text{mm}^3$  olarak bulundu (Tablo 3.5).

Trichlorfonun  $\text{LC}_{50}$  değerinin %20'sinin uygulandığı D2 grubu balıkların eritrosit sayısı 3. günde  $1,44 \pm 0,10 \times 10^6/\text{mm}^3$  iken, 21. günde bu sayının  $1,23 \pm 0,14 \times 10^6/\text{mm}^3$  değerine düştüğü saptandı (Tablo 3.5).

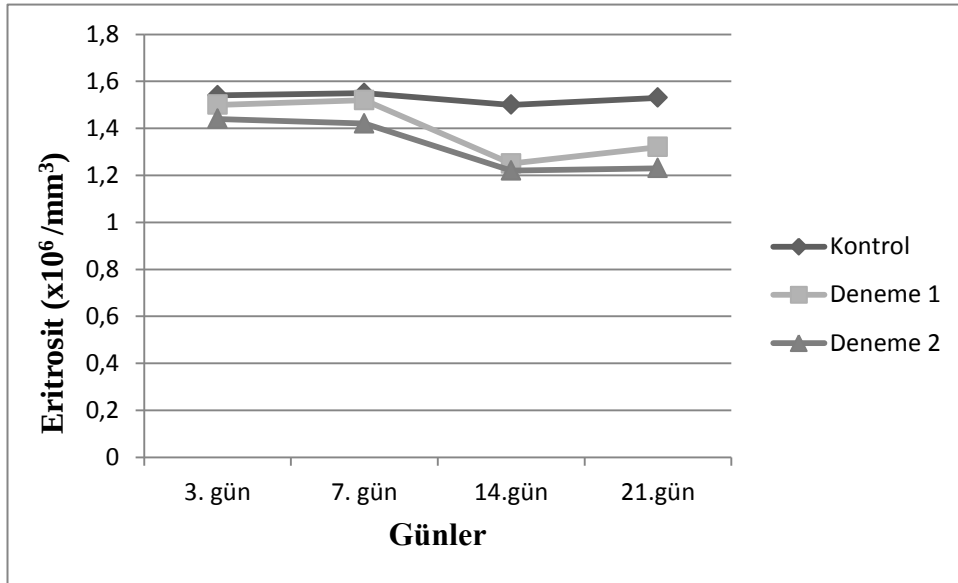
Denemenin 3. ve 7. günlerinde kontrol grubu ile D1 ve D2 grubu balıkların eritrosit sayıları arasındaki farkın önemli olmadığı görüldü ( $p>0,05$ ).

Denemenin 14. ve 21. günlerde ise D1 ve D2 grubu balıkların eritrosit sayılarının kontrol grubu balıklara göre düşük olduğu ve aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu saptandı ( $p<0,05$ ) (Tablo 3.5, Şekil 3.5).

**Tablo 3.5.** Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan *C. carpio*'nun eritrosit sayılarında zamana bağlı değişimler

| Günler | K<br>( $\times 10^6/\text{mm}^3$ ) | D1<br>( $\times 10^6/\text{mm}^3$ ) | D2<br>( $\times 10^6/\text{mm}^3$ ) |
|--------|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| 3.Gün  | $1,54 \pm 0,11^{A,a}$              | $1,50 \pm 0,13^{A,a}$               | $1,44 \pm 0,10^{A,a}$               |
| 7.Gün  | $1,55 \pm 0,13^{A,a}$              | $1,52 \pm 0,11^{A,a}$               | $1,42 \pm 0,09^{A,a}$               |
| 14.Gün | $1,50 \pm 0,11^{A,a}$              | $1,25 \pm 0,18^{B,b}$               | $1,22 \pm 0,12^{B,b}$               |
| 21.Gün | $1,53 \pm 0,12^{A,a}$              | $1,32 \pm 0,21^{B,b}$               | $1,23 \pm 0,14^{B,b}$               |

- K: kontrol grubu, D1: Trichlorfonun  $LC_{50}$  değerinin % 10'unun uygulandığı grup, D2: Trichlorfonun  $LC_{50}$  değerinin % 20'sinin uygulandığı grup.
- a, b, c: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ).
- A, B, C: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ).



**Şekil 3. 5.** Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan *C. carpio*'nun eritrosit sayılarında zamana bağlı değişimler

### 3.6. Lökosit Sayıları

Trichlorfonun subletal konsantrasyonlarının 21 gün süreyle uygulandığı balıkların lökosit sayılarında aşağıdaki değişimler belirlendi.

Kontrol grubu balıklarda 3., 7., 14., ve 21. günlerdeki lökosit sayısı  $40,00 \pm 3,95 \times 10^3/\text{mm}^3$  -  $43,00 \pm 4,45 \times 10^3/\text{mm}^3$  arasında bulundu.

Trichlorfonun  $\text{LC}_{50}$  değerinin %10'unun uygulandığı D1 grubu balıklarda lökosit sayısı 3. gün  $31,4 \pm 5,61 \times 10^3/\text{mm}^3$  ve 21. günde bu sayı  $26,25 \pm 4,05 \times 10^3/\text{mm}^3$  olarak tespit edildi.

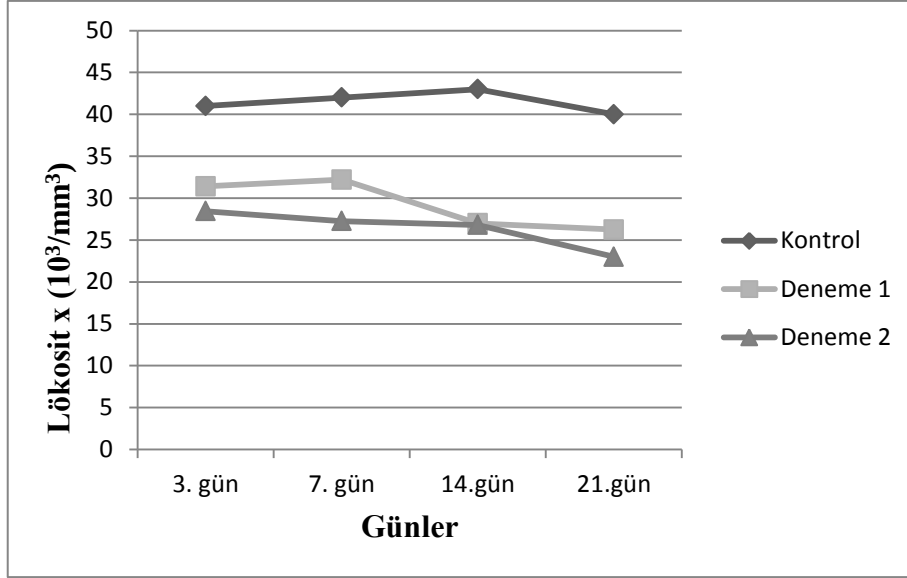
Trichlorfonun  $\text{LC}_{50}$  değerinin %20'sinin uygulandığı D2 grubu balıkların lökosit sayısı 3. günde  $28,44 \pm 4,12 \times 10^3$  iken, 21. günde bu sayı  $23,00 \pm 3,71 \times 10^3/\text{mm}^3$  düzeyine indi.

Denemenin 3., 7., 14. ve 21. günlerinde kontrol grubu balıkları ile D1 ve D2 grubu balıkların lökosit sayıları arasındaki farkın önemli olduğu saptandı ( $p < 0,05$ ). Trichlorfon uygulanan balıklarda denemenin bütün günlerinde lökosit sayısının azaldığı görüldü (Tablo 3.6, Şekil 3.6).

**Tablo 3.6.** Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan *C. carpio*'nun lökosit sayılarında zamana bağlı değişimler

| Günler        | K<br>( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ) | D1<br>( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ) | D2<br>( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ) |
|---------------|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>3.Gün</b>  | $41,00 \pm 3,87^{A,a}$             | $31,4 \pm 5,61^{A,b}$               | $28,44 \pm 4,12^{A,b}$              |
| <b>7.Gün</b>  | $42,00 \pm 4,01^{A,a}$             | $32,2 \pm 6,03^{A,b}$               | $27,25 \pm 2,91^{A,c}$              |
| <b>14.Gün</b> | $43,00 \pm 4,45^{A,a}$             | $27,00 \pm 3,95^{A,b}$              | $26,8 \pm 2,95^{A,b}$               |
| <b>21.Gün</b> | $40,00 \pm 3,95^{A,a}$             | $23,00 \pm 3,71^{B,b}$              | $23,00 \pm 3,71^{B,b}$              |

- K: kontrol grubu, D1: Trichlorfonun  $\text{LC}_{50}$  değerinin % 10'unun uygulandığı grup, D2: Trichlorfonun  $\text{LC}_{50}$  değerinin % 20'sinin uygulandığı grup.
- a, b, c: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ( $p > 0,05$ ).
- A, B, C: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ( $p > 0,05$ ).



Şekil 3. 6. Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan *C. carpio*'nın lökosit sayılarında zamana bağlı değişimler.

### 3.7. Hemogloblin Düzeyi

Kontrol grubu balıkları ve trichlorfonun subletal konsantrasyonlarının uygulandığı balıkların hemogloblin düzeylerinde aşağıdaki değişimler belirlendi.

Kontrol grubu balıklarda çalışma boyunca hemogloblin düzeyi  $7,82 \pm 0,65$  g/100ml ile  $8,16 \pm 0,84$  g/100ml arasında belirlendi (Tablo 3.7).

Trichlorfonun  $LC_{50}$  değerinin %10'unun uygulandığı D1 grubu balıklarda hemogloblin miktarı 3. günde  $7,46 \pm 0,62$  g/100ml iken 7. günde  $5,44 \pm 0,27$  g/100 ml değerine indi (Tablo 3.7, Şekil 3.7).

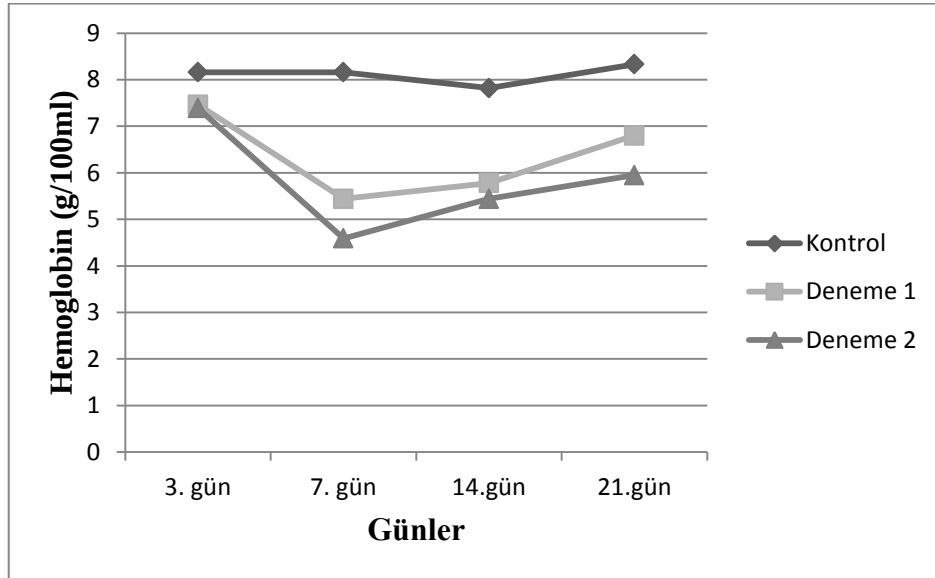
Trichlorfonun  $LC_{50}$  değerinin %20'sinin uygulandığı D2 grubu balıklarında hemogloblin miktarı 3. günde  $7,39 \pm 0,11$  g/100ml ve 7. günde bu değer  $4,59 \pm 0,53$  g/100ml olarak bulundu.

Denemenin 3. gününde kontrol grubu balıkları ile trichlorfonun subletal konsantrasyonlarının uygulandığı balıkların hemogloblin düzeyleri arasında farkın önemli olmadığı belirlendi ( $p > 0,05$ ). Denemenin 7., 14. ve 21. günlerinde ise D1 ve D2 grubu balıkların hemogloblin düzeylerinin kontrol grubuna göre düşük olduğu ve aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu saptandı ( $p < 0,05$ ), (Tablo 3.7, Şekil3.7).

**Tablo 3.7.** Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan *C. carpio*'nun hemoglobin değerlerinde zamana bağlı değişimler

| Günler | K<br>(g/100ml)             | D1<br>(g/100ml)            | D2<br>(g/100ml)            |
|--------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 3.Gün  | 8,16 ± 0,60 <sup>A,a</sup> | 7,46 ± 0,62 <sup>A,a</sup> | 7,39 ± 0,11 <sup>A,a</sup> |
| 7.Gün  | 8,16 ± 0,60 <sup>A,a</sup> | 5,44 ± 0,27 <sup>B,b</sup> | 4,59 ± 0,53 <sup>B,b</sup> |
| 14.Gün | 7,82 ± 0,65 <sup>A,a</sup> | 5,78 ± 0,61 <sup>B,b</sup> | 5,44 ± 0,51 <sup>B,b</sup> |
| 21.Gün | 8,33 ± 0,72 <sup>A,a</sup> | 6,8 ± 0,32 <sup>B,b</sup>  | 5,95 ± 0,44 <sup>B,b</sup> |

- K: kontrol grubu, D1: Trichlorfonun LC<sub>50</sub> değerinin % 10'unun uygulandığı grup, D2: Trichlorfonun LC<sub>50</sub> değerinin % 20'sinin uygulandığı grup.
- a, b, c: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır (p>0,05).
- A, B, C: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır (p>0,05).



**Şekil 3. 7.** Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan *C. carpio*'nun hemoglobin değerlerinde zamana bağlı değişimler

### 3.8.Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV)

Trichlorfonun subletal konsantrasyonlarının 21 gün süreyle uygulandığı balıkların ortalama eritrosit hacminde (MCV) aşağıdaki değişimler belirlendi.

Kontrol grubu balıklarda MCV değeri çalışma boyunca  $276 \pm 32,78 \mu^3$  ile  $300,65 \pm 35,12 \mu^3$  arasında bulundu.

Trichlorfonun LC<sub>50</sub> değerinin %10'unun uygulandığı D1 grubu balıklarda 3. günde MCV değeri  $280 \pm 18,67 \mu^3$ , 21. günde ise bu değer  $236,74 \pm 21,47 \mu^3$  olarak belirlendi.

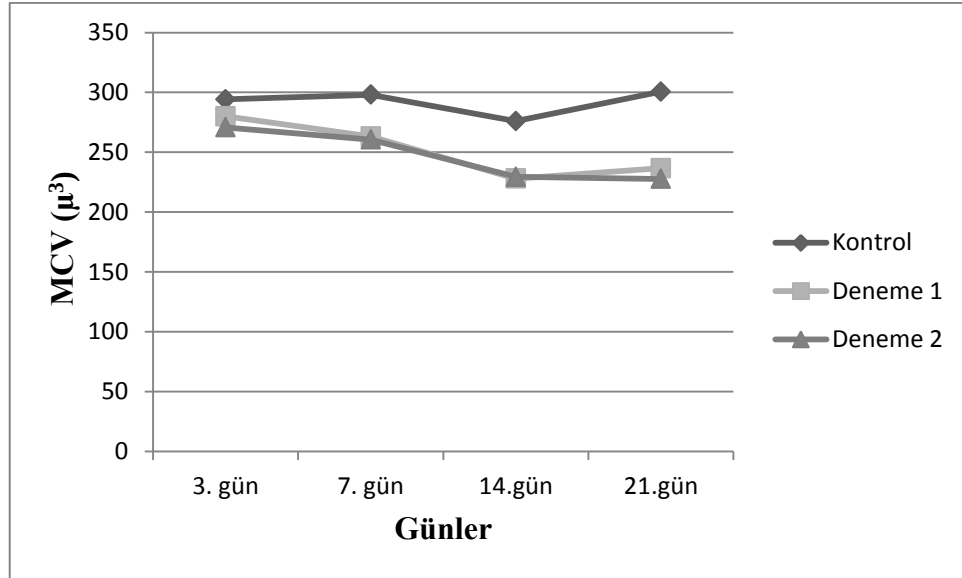
Trichlorfonun LC<sub>50</sub> değerinin %20'sinin uygulandığı D2 grubu balıkların 3. günde MCV değeri  $270,83 \pm 18,75 \mu^3$  iken, 21. günde  $227,67 \pm 27,40 \mu^3$  değerine düştüğü tespit edildi.

Denemenin 3. gününde kontrol ile D1 ve D2 grubundaki balıkların MCV değerleri arasında farkın önemli olmadığı ( $p>0,05$ ), ancak 7., 14. ve 21. günlerde bu farkın önemli olduğu belirlendi ( $p<0,05$ ) (Tablo 3.8, Şekil 3.8). Trichlorfon uygulanan balıkların MCV değerlerinde zamana bağlı olarak azalma meydana geldiği tespit edildi.

**Tablo 3.8.** Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan *C. carpio*'nun MCV değerlerinde zamana bağlı değişimler

| Günler | K<br>( $\mu^3$ )         | D1<br>( $\mu^3$ )        | D2<br>( $\mu^3$ )        |
|--------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 3.Gün  | $294,15 \pm 5,64^{A,a}$  | $280,00 \pm 18,67^{A,a}$ | $270,83 \pm 8,75^{A,a}$  |
| 7.Gün  | $298,06 \pm 22,45^{A,a}$ | $263,15 \pm 24,12^{A,b}$ | $260,56 \pm 14,87^{A,b}$ |
| 14.Gün | $276,00 \pm 32,78^{A,a}$ | $228,00 \pm 15,44^{B,b}$ | $229,5 \pm 15,10^{B,b}$  |
| 21.Gün | $300,65 \pm 5,12^{A,a}$  | $236,74 \pm 21,47^{B,b}$ | $227,67 \pm 27,40^{B,b}$ |

- K: kontrol grubu, D1: Trichlorfonun LC<sub>50</sub> değerinin % 10'unun uygulandığı grup, D2: Trichlorfonun LC<sub>50</sub> değerinin % 20'sinin uygulandığı grup.
- a, b, c: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ).
- A, B, C: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ).



Şekil 3.8 . Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan *C. carpio*'nun MCV değerlerinde zamana bağlı değişimler

### 3.9. Ortalama Eritrosit Hemoglobini (MHC)

Trichlorfonun subletal konsantrasyonlarının uygulandığı balıkların çalışma süresince ortalama eritrosit hemoglobini (MHC) değişimleri Tablo 3.9'de verilmiştir.

Kontrol grubu balıklarda 3., 7., 14., ve 21., günlerde MHC değerinin  $52,13 \pm 4,18$  -  $54,44 \pm 4,72$  pg arasında olduğu saptandı.

Trichlorfonun  $LC_{50}$  değerinin %10'unun uygulandığı D1 grubu balıklarda 3. günde MHC değeri  $49,73 \pm 3,15$  pg iken, 7. günde  $35,78 \pm 2,26$  pg değerine indi.

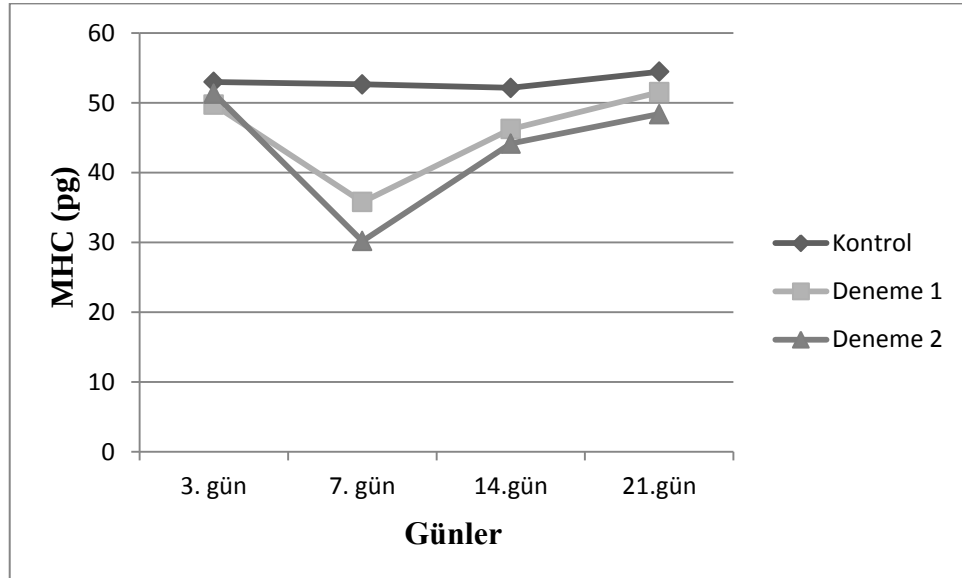
Trichlorfonun  $LC_{50}$  değerinin %20'sinin uygulandığı D2 grubu balıklarda 3. günde MHC değeri  $51,31 \pm 2,12$  pg iken, bu değer 7. günde  $30,19 \pm 3,17$  pg olarak tespit edildi.

Kontrol grubu balıklar ile D1 ve D2 grubu balıkların MHC değerleri arasındaki farkın 3. ve 21. günlerde önemli olmadığı tespit edilirken ( $p > 0,05$ ), 7. ve 14. günlerde farkın önemli olduğu saptandı ( $p < 0,05$ ). Ancak, trichlorfon farklı iki konsantrasyonunun uygulandığı balıkların MHC değerlerinde 7. günde bariz bir azalma meydana gelirken, 14. ve 21. günlerde bu azalmanın yerini artışa bıraktığı gözlemlendi (Tablo 3.9, Şekil 3.9).

**Tablo 3.9.** Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan *C. carpio*'nun MHC değerlerinde zamana bağlı değişimler

| Günler | K<br>(pg)                   | D1<br>(pg)                   | D2<br>(pg)                  |
|--------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| 3.Gün  | 52,98 ± 3,85 <sup>A,a</sup> | 49,73 ± 3,15 <sup>A,a</sup>  | 51,31 ± 2,12 <sup>A,a</sup> |
| 7.Gün  | 52,64 ± 5,05 <sup>A,a</sup> | 35,78 ± 2,26 <sup>B,b</sup>  | 30,19 ± 3,17 <sup>B,b</sup> |
| 14.Gün | 52,13 ± 4,18 <sup>A,a</sup> | 46,24 ± 3,78 <sup>A,ab</sup> | 44,15 ± 1,49 <sup>A,b</sup> |
| 21.Gün | 54,44 ± 4,72 <sup>A,a</sup> | 51,51 ± 4,01 <sup>A,ab</sup> | 48,37 ± 2,31 <sup>A,b</sup> |

- K: kontrol grubu, D1: Trichlorfonun LC<sub>50</sub> değerinin % 10'unun uygulandığı grup, D2: Trichlorfonun LC<sub>50</sub> değerinin % 20'sinin uygulandığı grup.
- a, b, c: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır (p>0,05).
- A, B, C: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır (p>0,05).



**Şekil 3. 9.** Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan *C. carpio*'nun MHC değerlerinde zamana bağlı değişimler

### 3.10. Ortalama Eritrosit Hemoglobini Konsantrasyonu (MCHC)

Kontrol grubu ve trichlorfonun subletal konsantrasyonlarını uygulandığı balıkların çalışma süresince MCHC değerlerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarda MCHC değerinin çalışma süresince  $17,66 \pm 2,74$  -  $18,88 \pm 2,45$  arasında olduğu belirlendi.

Trichlorfonun LC<sub>50</sub> değerinin %10'unun uygulandığı D1 grubu balıkların MCHC değeri 3. günde  $17,76 \pm 1,72$  iken, 7. günde  $13,6 \pm 2,07$ 'e düştüğü tespit edildi.

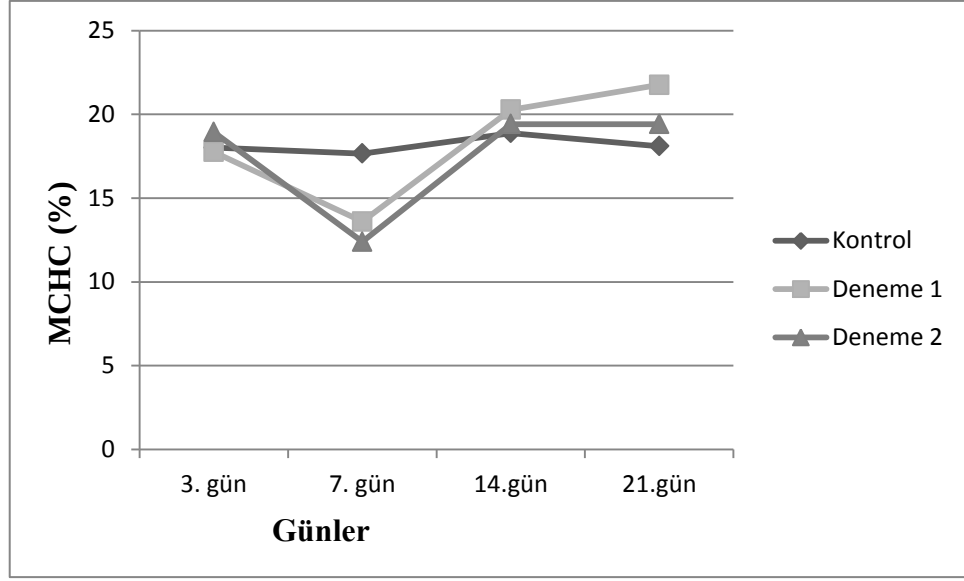
Trichlorfonun LC<sub>50</sub> değerinin %20'sinin uygulandığı D2 grubu balıkların MCHC değeri 3. günde  $18,94 \pm 2,85$  iken, 7. günde bu değer  $12,40 \pm 1,98$  olarak bulundu.

Denemenin 3. ve 14. günlerinde kontrol ile D1 ve D2 grubu balıkların MCHC değerleri arasında farkın önemli olmadığı belirlendi ( $p>0,05$ ). Ancak 7. günde ve 21. günde belirlenen değerler arasındaki farkın önemli olduğu saptandı ( $p<0,05$ ) (Tablo 3.10, Şekil 3.10).

**Tablo 3.10.** Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan *C. carpio*'nun MCHC değerlerinde zamana bağlı değişimler

| Günler | K (%)                  | D1 (%)                 | D2 (%)                  |
|--------|------------------------|------------------------|-------------------------|
| 3.Gün  | $18,01 \pm 2,31^{A,a}$ | $17,76 \pm 1,72^{A,a}$ | $18,94 \pm 2,85^{A,a}$  |
| 7.Gün  | $17,66 \pm 2,74^{A,a}$ | $13,6 \pm 2,07^{B,b}$  | $12,40 \pm 1,98^{B,b}$  |
| 14.Gün | $18,88 \pm 2,45^{A,a}$ | $20,28 \pm 2,11^{C,a}$ | $19,42 \pm 0,89^{A,a}$  |
| 21.Gün | $18,10 \pm 3,41^{A,a}$ | $21,76 \pm 1,87^{C,b}$ | $19,42 \pm 1,21^{A,ab}$ |

- K: kontrol grubu, D1: Trichlorfonun LC<sub>50</sub> değerinin % 10'unun uygulandığı grup, d2: Trichlorfonun LC<sub>50</sub> değerinin % 20'sinin uygulandığı grup.
- a, b, c: Aynı satırda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ).
- A, B, C: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ).



**Şekil 3. 10.** Kontrol grubu ve trichlorfon uygulanan *C. carpio*'nun MCHC değerlerinde zamana bağlı değişimler

#### 4. TARTIŞMA

Letal konsantrasyon -50 (LC<sub>50</sub>), toksik maddenin etkisine bırakılmış organizmaların %50'sini öldüren konsantrasyon olarak tanımlanmış olup, toksik etkinin istatistik olarak güvenilir bir tayin şekli olarak kabul edilmiştir (Parlak vd., 2009). EPA, trichlorfonun LC<sub>50</sub> değerini, gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) için 0,43 mg/L, göl alabalığı (*Salmo trutta abanticus*) için 0,55 mg/L, kaynak alabalığı (*Salvelinus fontinalis*) için 0,24 mg/L ve kanal yayın balığı için 0,88 mg/L (%98 etken madde) olarak bildirmişlerdir (Gross vd., 1997). Anton ve Ariz (1994), trichlorfonun *C. carpio* üzerindeki LC<sub>50</sub> değerinin 89,92 ± 6,3 mg/L olduğunu *Carrasius auratus* için ise bu değerin 46,90 ± 1,17mg/L olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmada ise organikfosfatlı insektisit trichlorfonun *C. carpio* üzerindeki LC<sub>50</sub> değeri 61,98 mg/l olarak belirlenmiştir.

Trichlorfonun subletal konsantrasyonlarının uygulandığı bu çalışmada, *C. carpio*'nun beyin ve karaciğer dokusundaki AChE aktivitesinde önemli bir azalmanın meydana geldiği tespit edilmiştir. Trichlorfonun D1 ve D2 konsantrasyonlarının uygulandığı *C. carpio*'nun beyin dokusundaki AChE aktivitesinin, denemenin 3. günde kontrol grubuna göre sırasıyla %49 ve %50 oranlarında inhibe olduğu belirlenirken, denemenin 14. ve 21. günlerinde ise beyin AChE aktivitesinin kontrol grubuna göre inhibe olduğu, ancak inhibisyon oranının 3. ve 7. günlerdekinden daha düşük olduğu saptanmıştır. Denemenin 3. gününde D1 ve D2 grubu balıklarının karaciğer dokusundaki AChE aktivitesi de kontrol grubuna göre sırasıyla %33 ve %35 iken, 21. günde %32 ve %16 oranında azalma tespit edilmiştir. AChE aktivitesinde meydana gelen azalma antikolinesteraz olan organofosfatlı insektisitlerin inhibitör etkilerinden kaynaklanmaktadır. Trichlorfon uygulanan balıklarda 7. günden sonra AChE aktivitesinin kontrol grubu değerlerine ulaşması, balıklarda negatif bir adaptasyonun meydana gelerek, pestisite karşı bir direnç göstermesinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Ancak 21. günde trichlorfon uygulanan gruptaki balıkların AChE aktivitesinde meydana gelen azalma, negatif adaptasyon süresinin sona erdiğini, pestisite karşı gösterilen direncin 14. günden sonra kırıldığını ve inhibisyonun tekrar başladığını göstermektedir.

Yapılan çeşitli çalışmalarda da pestisitlerin AChE aktivitesini inhibe ettiği bildirilmiştir; Chandrasekara ve Pathiratne, (2005), 24 saat sonunda *C. carpio*'da organofosfatlı insektisit trichlorfonun, beyin dokusundaki AChE aktivitesinin %52 ve %57 oranında azalmasına neden olduğunu saptamışlardır. Guimares vd., (2007), 96 saat sonunda trichlorfonun

*Oreochromis niloticus*'un kas dokusundaki AChE'nin %85 oranında inhibe olduğunu bildirmişlerdir. Feng vd., (2008), trichlorfonun farklı konsantrasyonlarının (0.0001, 0.001, 0.01, 0.1 ve 1g/L) 90 dakika sonunda *Tilapia nilotica*'nın AChE aktivitesinde %95'e varan azalmaya neden olduğunu bulmuşlardır. Sahib vd., (1980) 2 ppm malathion etkisinde bırakılan *Tilapia mossambica*'da beyin karaciğer, kas ve solungaç dokusunda AChE aktivitesinde 60 saat sürede önemli derecede azalma meydana geldiğini tespit etmişlerdir. Diklorvos derişimi ve uygulama süresi arttıkça *T. mossambica*'nın beyin ve karaciğer dokusunda, AChE aktivitesinin azaldığı ortaya koyulmuştur (Rath ve Misra, 1981). Bu çalışmada da AChE aktivitesi ile ilgili olarak elde edilen sonuçların, pestisitlerle yapılmış olan diğer çalışmaların sonuçlarıyla benzer bulunmuştur. Beyin ve karaciğer dokusunda AChE aktivitesinde meydana gelen azalmanın organofosfatlı insektisitlerin inhibitör etkisinden ileri geldiği belirlenmiştir.

Balığın fizyolojik durumunun izlenmesi ve hastalıklarının tanısı için hematolojik parametrelerin belirlenmesi oldukça önemlidir. Bu nedenle bu çalışmada bazı kan parametrelerindeki değişimler araştırılmıştır.

Hematokrit düzeyi balığın hematopoetik aktivitesinin bir göstergesidir. Anormal hematokrit değerleri bir sağlık probleminin var olduğunu göstermektedir (Benli ve Gülen, 2009). Denemenin bütün günlerinde, trichlorfonun LD<sub>50</sub> değerinin %10'u ve %20'sinin uygulandığı balıkların hematokrit değerleri kontrol grubu balıklardan düşük bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Pestisitlerle yapılan çeşitli çalışmalarla balıkların hematokrit değerinde meydana gelen değişimler tespit edilmiştir; Svoboda vd., (2001), organikfosfatlı diazinon uygulanan *C. carpio*'nun hematokrit değerinin kontrol grubunda düşük olduğunu bulmuşlardır. Yonar vd., (2012), klorpirifos uygulanan *C. carpio*'nun hematokrit değerlerinde kontrol grubuna göre azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Benli ve Gülen (2009), organofosfatlı pestisitlerden fenitrothionun etkisinde kalan *Oreochromis niloticus*'ta hematokrit değerinin kontrol grubuna göre azaldığını saptamıştır. Svoboda vd., (2003), Deltametrin uygulanan *C. carpio*'nun eritrosit sayısında kontrol grubuna göre azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Trichlorfonun subletal konsantrasyonlarının uygulandığı bu çalışmada ise; *C. carpio*'nun hematokrit düzeyinde meydana gelen azalma, yukarıda verilmiş olan çalışmaların bulgularıyla benzer bulunmuştur.

Lökosit değeri; kandaki lökositlerin yüzde hacmini veren ve balıkların sağlık durumları hakkında bilgi sahibi olmamızı sağlayan bir parametredir. Bu çalışmada kontrol grubu ile trichlorfon uygulanan grupların lökosit değerleri arasında farkın önemli olduğu

belirlendi. ( $p<0,05$ ). Chandrasekara ve Pathiratne, (2005), trichlorfonun farklı iki konsantrasyonunun uygulandığı *C. carpio*'nun lökosit değerlerinde düşüş meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Yonar vd., (2012) klorpirifosun *C. carpio*'nun lökosit değerlerinde kontrol grubuna göre azalmaya neden olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmada da trichlorfon uygulanan balıkların lökosit değerinin kontrol grubundan düşük olduğu tespit edilmiştir.

Kontrol grubu ile trichlorfon uygulanan gruplardaki balıkların eritrosit sayılarının denemenin 14. gününden itibaren azalmaya başladığı belirlendi. Svoboda vd., (2001), 96 saat süreyle diazinon uygulanan balıklar kontrol grubu balıklar ile karşılaştırıldığında eritrosit sayılarının düşük olduğunu bulmuştur. Yonar vd., (2012), klorpirifosun iki farklı konsantrasyonunun uygulandığı *C. carpio*'da eritrosit sayısının kontrol grubuna göre düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Vani vd., (2011), Deltametrinin subletal konsantrasyonunun uygulandığı *Catla catla*'nın eritrosit sayılarının kontrol grubundan düşük olduğunu belirlemişlerdir. Köprücü vd. (2006), organofosfatlı pestisit diazinon etkisindeki *Silurus glanis*'in eritrosit sayısının süreye ve derişime bağlı olarak azaldığını bildirmişlerdir. 96 saat süreyle deltametrin etkisinde bırakılan *C. carpio*'nun eritrosit sayısında azalma olduğu saptanmıştır (Svoboda vd., 2003). Trichlorfonun subletal konsantrasyonlarının uygulandığı pullu sazanların eritrosit sayılarının kontrol grubuna göre daha düşük bulunması, pestisitlerle yapıldığı bildirilen yukarıdaki çalışmaların sonuçlarıyla benzerlik göstermiştir.

Denemenin bütün günlerinde kontrol grubu ile trichlorfon uygulanan balıkların lökosit sayıları arasında farkın önemli olduğu saptandı ( $p<0,05$ ). *C. carpio* üzerinde denenen trichlorfon (Chandrasekara ve Pathiratne, 2005), ve diazinonun (Svoboda vd., 2001) lökosit sayılarında önemli azalmalara neden olduğu belirlenmiştir. Köprücü vd. (2006), diazinonun *Silurus glanis*'in lökosit sayısında düşüşe yol açtığını bildirmişlerdir. Vani, vd., (2011), deltametrinin subletal konsantrasyonunun uygulandığı *C. catla*'nın lökosit sayısında azalmaya neden olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada, trichlorfonun subletal konsantrasyonlarının uygulandığı *C. carpio*'nun lökosit sayılarının denemenin 3. gününden itibaren azalmaya başladığı ve deneme boyunca bu değerin kontrol grubundan düşük olduğu saptanmıştır. Bu sonuç pestisitlerle yapılan çalışmalarla paralellik göstermiştir.

Svoboda vd., (2001), diazionun subletal konsantrasyonunun 96 saat süreyle uygulandığı *C. carpio*'da hemoglobilin düzeyinin kontrol grubu balıklardan düşük olduğunu bildirmişlerdir. Vani vd., (2011), deltametrinin *C. catla*'nın hemoglobin

düzeyinde azalmaya neden olduğunu tespit etmişlerdir. Svoboda vd., (2003), deltametrinin Yonar vd., (2012), 10 gün boyunca klorpirifos etkisinde kalan *C. carpio*'nun hemoglobinin miktarının kontrol grubuna göre düşük olduğunu bildirmişlerdir. Trichlorfonun subletal dozlarının 21 gün boyunca uygulandığı bu araştırmada *C. carpio*'nun hemoglobinin miktarında, denemenin 7., 14. ve 21. günlerinde kontrol grubuna göre azalma olduğunu belirlenmesi Svoboda vd. (2001,2003), Vani vd. (2001) ve Yonar vd. (2012)'nin yapmış oldukları çalışmalardaki bulgularla benzer bulunmuştur.

Eritrosit indeksleri (MCV, MHC, MCHC) anemi tiplerinin belirlenmesinde yardımcı olurlar. MCV değerlerinin artması durumunda makrositer, azalması durumunda ise, mikrositer anemi, MHC değerlerinin artması durumunda hiperkrom, azalması durumunda ise hipokrom aneminin olduğu söylenir (Irmak vd., 1971; Nazıroğlu, 2001). Pestisitlerle yapılan bazı çalışmalarda (Svoboda vd., 2001; Svoboda vd., 2001), pestisit uygulaması sonucunda balıkların eritrosit indekslerinde (MCV, MHC ve MCHC) kontrole göre herhangi bir değişimin olmadığı tespit edilmiştir. Bu çalışma sonunda elde edilen veriler değerlendirildiğinde, denemenin 14. gününden itibaren trichlorfonun subletal konsantrasyonlarının uygulandığı balıklarda mikrositer aneminin meydana geldiği belirlenmiştir. Trichlorfon uygulanan D2 grubu balıklarda 7. günden itibaren mikrositer hipokrom anemi şekillendiği tespit edilmiştir. Trichlorfon uygulanan balıkların MCHC değerinin denemenin 7. gününde azaldığı denemenin diğer günlerinde kontrol grubuyla trichlorfon uygulanan balıkların MCHC değerleri arasında farkın önemli olmadığı saptandı ( $p<0,05$ ).

Organikfosfatlı bileşiklerin etkisinde kalan balıklarda hematopoezisin azalmasını takiben anemi olduğu kanıtlanmıştır (Svoboda vd., 2001). Bu çalışmada kontrol grubuna göre trichlorfon uygulanan balıkların kan parametrelerinde meydana gelen düşüşün nedeni, pestisitinin hematopoetik dokularda oluşturduğu zararlı etkiye bağlanmıştır.

## 5. SONUÇ

Bu çalışmada, zirayi mücadelede insektisit, hayvancılık ve su ürünleri sektöründe ise ektoparaziter olarak kullanılan organofosfatlı insektisit trichlorfonun *C. carpio*' üzerindeki LC<sub>50</sub> değeri hesaplanmış olup, AChE aktivitesi ve bazı hematolojik parametrelere olan etkisi incelenmiştir.

Trichlorfon etkisinde bırakılan balıklarda AChE aktivitesi kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. AChE aktivitesinde meydana gelen düşüşe bağlı olarak trichlorfonun *C. carpio* üzerinde nörotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir.

Trichlorfonun düşük konsantrasyonlardaki etkisini belirlemek için AChE aktivitesinin önemli bir yardımcı enzim olduğu saptanmıştır. AChE aktivitesinin organofosfat pestisit kirliliğinin belirlenmesinde biyobelirteç olarak kullanılabileceği ortaya konmuştur.

*C. carpio*'nun kan parametrelerine bakıldığında, trichlorfonun hematopoetik organlarda hasara yol açarak, *C. carpio*'nun hematokrit ve lökokrit sayısı, hemoglobin miktarı, eritrosit ve lökosit sayılarında kontrole göre azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Eritrosit hacminde meydana gelen azalmaya bağlı olarak mikrositer anemi, hemoglobin miktarında meydana gelen azalmaya bağlı olarak hipokrom anemi meydana geldiği tespit edilmiştir.

Tarım alanlarında kullanılan pestisitlerin su ortamına ulaşması başta balıklar olmak üzere hedef dışı birçok sucul organizmanın zarara uğramasına neden olmaktadır. Bu nedenle, organizmalar üzerinde mutajenik, teratojenik veya kanserojenik etkileri olduğu bilinen pestisitlerin bu zararlarını mümkün olduğunca azaltacak önlem ve uygulamalara önem verilmelidir.

Bu çalışmada elde edilen bulgularla, trichlorfonun *C. carpio* üzerindeki LC<sub>50</sub> değeri, AChE aktivitesi ve kan parametreleri üzerine olan etkileriyle ilgili yeni bilgiler sağlanması bakımından biyokimyasal toksikoloji alanında önemli bulunmuştur. Ayrıca bulgular ülkemizde ekotoksikolojik risk değerlendirme çalışmalarında ve çevre koruma çalışmalarının kirlilik izleme programlarında kullanılabilecektir.

## 6. KAYNAKLAR

- Aksoy, S.**, 1982. Bazı Organik Sentetik İsektisitlerin Etki Mekanizmaları. Tür. Bit. Kor. Derg.6, 111-126s.
- Ansari, B.A., Kumar, K.**, 1984. Malathion Toxicity: *In vivo* Inhibition of AChE in the Fish *Brachydanio rerio* (Cyprinidae). Toxicology Letters, 20, 283-287s.
- Anton, F., A., Ariz, M.**, 1994. Acute Toxicity of Technical Trichlorophon to Cyprinid Fish. Environmental Contamination and Toxicology, 53: 627-632.
- Arda, M., Seçer, S., Sarıeyyüoğlu, M.**, 2005. Balık Hastalıkları. Medisan yayı serisi, No: 61, 2. Baskı, Ankara, 230.
- Atamanalp, M., Bayır, A., Sirkecioğlu, N., A., ve Cengiz, M.**, 2003 a. Bir Dezenfektanın (Malahit Yeşili) Subletal Dozlarının Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Kan Parametreleri Üzerine Etkileri. Gazi Üniversitesi, Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi, Cilt 23, Sayı 3, 177-187s.
- Atamanalp, M., Bayır, A., Sirkecioğlu, N., A., Yanık, T., Yılmaz, M., ve Cengiz, M.**, 2003 b. Farklı Yemlerle Beslemenin Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)’nda Hematokrit ve Hemoglobin Miktarı Üzerine Etkileri. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi. 34, 229-232s.
- Atmanalp, M., Yanık, T.**, 2001. Pestisitlerin Cyprinidae’lere Toksik Etkileri. Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Dergisi, Cilt 18, Sayı 3-4, 555-563s.
- Aydın, R., Köprücü, K.**, 2005. Acute toxicity of diazinon on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae. Pesticide Biochemistry and Physiology 82, 220–225s.
- Azizoğlu, A., Cengizler, İ.**, 1996. Sağlıklı *Oreochromis niloticus* (L.) bireylerinde bazı hematolojik parametrelerin saptanması üzerine bir araştırma. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 20: 425-431.
- Aytuğ, C. N., Bayşu, N., Ceylan, S., Kalaycıoğlu, L., Tan, H.**, 1976. Organik Fosforlu ve Karışık İsektisit Zehirlenmelerinde Gangliyon Bloke Eden İlaçlarla Kombine Tedavi Denemeleri ve Bu İsektisitlerin Böbrek Üstü Bezi ve Karaciğer Üzerine Etkisine İlişkin Biyoşimik ve Hematolojik Çalışmalar. TÜBİTAK Yayınları, No: 306, Ankara.
- Barr, D. B., Needham, L. L.**, 2002. Analytical methods for biological monitoring of exposure to pesticides: a review. Journal of Chromatography B, 778: 5-29.

- Başusta, G., A.,** 2010. Balık Hematolojisi ve Hematolojik Parametreler. Balık Biyolojisi Araştırma Yöntemleri. Editor: M. Karataş. Nobel Kitap Dağıtım A.Ş. Nobel Yayın No:4, 2. Baskı, Bölüm: 9, 277-302s.
- Benli, K. A. Ç., ve Gülen, Z.,** 2009. Fenitrothion'un Etkisinde Bırakılan Tilapia'da ( *Oreochromis niloticus* L.) Sekonder Stres İndikatörleri Hematokrit ve Plazma Glukoz Seviyesinin Değişimi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 19, 19-22.
- Chandrasekara, H., U.,ve Pathiratne, A.,** 2005. Influence of low concentrations of Trichlorfon on haematological parameters and brain acetylcholinesterase activity in common carp, *Cyprinus carpio* L. Aquaculture Research, 36, 144-149.
- Chang, C. C., Lee, P. P., Liu, C. H., Cheng, W.,** 2006. Trichlorfon, an organophosphorus insecticide, depresses the immune responses and resistance to *Lactococcus garvieae* of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Fish & Shellfish Immunology, 20, 574-585.
- Costa, L. G.,** 2006. Current issues in organophosphate toxicology. [Clinica Chimica Acta Volume 366, Issues 1–2](#), 1–13p.
- Çakır, Ş., ve Sarıkaya, R.,** 2004. Bazı Organik Fosforlu İnsektisitlerin *Drosophila Melanogaster*'in Yaşama Yüzdesi Üzerine Etkisi. Gazi üniversitesi, Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi, Cilt 24, Sayı 3, 71-80s.
- Çakır, Ş., Yamanel, Ş.,** 2005, Böceklerde İnsektisitlere Direnç, Gazi Üniversitesi, Kırşehir Eğitim Fakültesi, 6 (1): 21-29
- Çelikkale, M.S.,** 2002. İçsu Balıkları ve Yetiştiriciliği. Karadeniz Teknik Üniversitesi Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi Genel Yayın No:128. Cilt II, III. Baskı. Trabzon, 460s.
- Demir, N.,** 2006. İhtiyoloji. Karataş, M., (Ed.). Nobel Yayın No: 924, Fen ve Biyoloji Yayınları Dizisi: 31, Ankara, 423s.
- Dutta, H., Marcelino, J., Richmonds, Ch.,** 1992. Brain Acetylcholinesterase Activity and Optomotor Behavior in Bluegills, *Lepomis Macrochirus* Exposed to Different Concentrations Diazinon. Archives Internationales de Pysiologie de Bioophysique, 100: 331-334s.
- Ellman, G.L., Courtney, K. D., Andres, V., Featherstone, R. M.,** 1961. A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. Biochemical Pharmacology, 7: 88-95.
- Feng, T., Li, Z. B., Guo, X. Q., Guo, J. P.,** 2007. Effects Of Trichlorfon And Sodium Dodecyl Sulphate On Antioxidant Defense System and Acetylcholinesterase Of *Tilapia Nilotica* In Vitro. Pesticide Biochemistry and Physiology 92, 107–113.

- Fulton, M. H., Key, P. B.,** 2001. Acetylcholinesterase Inhibition In Estuarine Fish And Invertebrates As An Indicator Of Organophosphorus Insecticide Exposure and Effects. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 20, No. 1, pp. 37–45, 2001.
- Ganong W. F.,** 1995. Tıbbi Fizyoloji. Edt: Doğan, A. Prentice-Hall International Inc, 16. Baskı. Barış Kitap Evi, İstanbul, 910s.
- Gross, W., Patrick, G., Farrar, D., Mahler, R., Kathryn, M., Parker, R., Hummel, S., Morris, L., Morrow, M., Smith, J., Peacock, D., Latulere, D., Lowery, D., Richard, R., Carol, S.,** 1997. Reregistration Eligibility Decision Trichlorfon List a Case 0104. Environmental Protection And Toxic Substances Agency (7508W), United States Prevention, Pesticides, EPA 738-R-96-017.
- Guimaraes, A. T. B., Silva De Assis, H. C., Boeger, W.,** 2007. The Effect of Trichlorfon on Acetylcholinesterase Activity and Histopathology of Cultivated Fish *Oreochromis niloticus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 68, 57–62.
- Güley, M., Vural N.,** 1976. Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No: 38, Ankara, 374s.
- Hai, D. Q., Varga, S. H., Matkovics, B.,** 1997. Organophosphorus effects on antioxidant system of carp (*Cyprinus carpio*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 117C: 83-88.
- Hazarika, A., Sarkar, S. N., Hajare, S., Kataria, M., Malik, J. K.,** 2003. Influence of malathion pretreatment on the toxicity of anilofos in male rats: A Biochemical Interaction Study. *Toxicology*, 185: 1-8.
- Inbaraj, R. M., Haider, S.,** 1988. Effects of Malathion and Endosulfan on Brain Acetylcholinesterase and Ovarian Steroidogenesis of *Chana punctatus* (Blonch). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 16: 123-128s.
- Irmak, S., Emiroğlu, F., Gökhan, N.,** 1971. Fizyoloji Dersleri. İstanbul Tıp Fakültesi Fizyoloji Kürsüsü, Cilt:1, Sermet Matbaası, İstanbul, 392s.
- İmren, H. ve Turan, O.,** 1985. Klinik Tanıda Laboratuvar. Beta Yayın Dağıtım A.Ş., 845s.
- Joshi, S., Bisvas, B., Malla, G.,** 2005. Management Of Organophosphorus Poisoning. *Update in Anaesthesia*, No: 19, 31-35s.
- Karaca, İ., Ay, R., Karaca, G.,** Pestisitlerin Çevre ve İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri. *Hasad, Bitkisel Üretim*, 21(245): 86-89.
- Kirby, M. F., Morris, S., Hurst, M., Kirby, S. J., Neall, P., Tylor, T. and Fagg, A.,** 2000. The Use of Cholinesterase Activity in Flounder (*Platichthys flesus*) Muscle Tissue as a Biomarker of Neurotoxic Contamination in UK Estuaries. *Marine Pollution Bulletin* Vol. 40, No. 9, pp. 780-791s.

- Konuk, T., 1981.** Pratik Fizyoloji, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, 378, Ankara, 250 s.
- Köprücü, Ş. S., Köprücü, K., Ural, M. Ş., İspir, Ü., Pala, M., 2006.** Acute toxicity of organophosphorous pesticide diazinon and its effects on behavior and some hematological parameters of fingerling European catfish (*Silurus glanis* L.). Pesticide Biochemistry and Physiology 86, 99-105s .
- Lehninger, A., Nelson. D., Cox, M. M., 1993.** Principles of Biochemistry. Second Edition, Worth Publishers, Inc., 1013s
- Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951.**Protein Measurement with the Folin-phenol Reagent. The Journal of Biochemistry, 193: 265-277.
- Mishra, J., and Srivastava, A. K., 1983.** Malathion Induced Hematological and Bichemical Changes in the Indian Catfish *Heteropneustes fossilis*. Environmental Research, 30: 393-398s.
- Nazıroğlu, M., 2001.** Hematopoetik Sistem ve Bağışıklık Sistem Fizyolojisi Ders Notları, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Elazığ.
- Noyan, A., 2008.** Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. Meteksan A.Ş. Ankara, 1157s.
- O'Brien, R. D., 1967.** Insecticides Action and Metabolism. Academic Press INC, New York and London, 332 p.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development), 1999.** Fish acute toxicity test. OECD Guideline for testing of chemicals, 203, 9 p.
- Oruç, E., Ö., Üner, N., 1999.** Effects of 2,4-Diamin on some parameters of protein and carbohydrate metabolisms in the serum, muscle and liver of Cyprinus carpio. Environmental Pollution 105 (1999) 267-272s.
- Pan, G., and Dutta, H. M., 1998.** The Inhibition of Brain Acetylcholinesterase Activity of Juvenile Largemouth Bass *Micropterus salmoides* by Sublethal Concentrations of Diazinon. Environmental Research, Section A 79, 133-137s.
- Parlak, H., Çakal Arslan, Ö., Boyacıoğlu, M., Karaslan, M. A., 2009.**Ekotoksikooji Ders Kitabı. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, No: 79, Ders Kitabı Dizini No: 39. Bornova – İzmir.
- Rao, J. V., Shilpanjali, D., Kavitha, P., Madhavendra, S. S., 2003.** Toxic effects of profenofos on tissue acetylcholinesterase and gill morphology in a euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus*. Organ Toxicity and Mechanisms, 77, 227–232s.

- Rath, S. and Misra, B. N.,** 1981. Toxicological effects of dichlorvos (DDVP) on brain and liver acetylcholinesterase (AChE) activity of *Tilapia mossambica*, Peters. Elsevier Toxicology, Volume: 19, Issue: 3, 239-245s.
- Rodríguez-Fuentes G., Gold-Bouchot, G.,** 2000. Environmental monitoring using acetylcholinesterase inhibition in vitro. A case study in two Mexican lagoons Marine Environmental Research, 50, 357-360s.
- Sahib, I. K. A., Sailatha, D., Rao, K. V. R.,** 1980. Toxicity of Malathion to the Freshwater Fish *Tilapia mossambica* (Peters)- A Time Course Study. Journal of Bioscience, 2: 37-41.
- Sancho, E., Ferrando, M. D., Andreu, E.,** 1998. vivo inhibition of AChE activity in the European eel *Anguilla anguilla* exposed to technical grade fenitrothion. Comparative Biochemistry and Physiology Part C 120, 389-395s.
- Shakoori, A. R., M. J. Iqbal, A. L. Mughal, S.,** 1991. Drastic biochemical changes following 48 hours of exposure of Chinese grass carp, *Ctenopharyngodon idella*, to sublethal doses of mercuric chloride. Proc 1. Symp. Fish & Fisheries, Pakistan. 81-98.
- Siwicki, A. K. ve Anderson, D. P.,** 1993. Immunostimulation in fish: Measuring the effects of stimulants by serological and immunological methods. Symposium on Fish Immunology Lysekil, Sweden, 24 p.
- Svoboda, M., Luskova, V., Drastichova, J., Ilabek, V.,** 2001. The effect of diazinon on haematological indices Of common carp (*cyprinus carpio* l.). Acta Veterinaria Brno, 70, 457-465s.
- Svoboda, Z., Luskova, V., Drastichova, J., Ilabek, V., Svoboda, M.,** 2003. Effect of Deltamethrin on Haematological Indices of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.). Acta Veterinaria Brno, 72, 79-85s.
- Timur, M.,** 2011. Balık Fizyolojisi. Nobel Yayın Dağıtım. Nobel Yayın No:957. Fen ve Biyoloji Yayınları Dizisi:34. Ankara, 188 s..
- Timur, G.,** 2008. Balık Anatomisi. Nobel Yayın Dağıtım Tic. LTD. ŞTİ. Yayın No:33, ISBN 978-605- 395-129-2.
- Toros, S., Maden, S.,** 1991. Tarımsal Savaşım Yöntem ve İlaçları, Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yay. No: 1222, 324-325.
- Torre De La, F. R., Ferrari, L., Salibia, N. A.,** 2002. Freshwater Pollution Biomarker: Response Of Brain Acetylcholinesterase Activity In Two Fish Species. Comparative Biochemistry and Physiology Part C 131. 271-280.
- Treves-Brown, K. M.,** 2000. Applied Fish Pharmacology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/ Boston/ London, 309s.

- Ural, M. Ş., Sağlam, N.,** 2005. A study on the acute toxicity of pyrethroid deltamethrin on the fry rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792), Pesticide Biochemistry and Physiology, 83 (2-3), 124-131.
- URL-1,** 2012. Pestisitler. [www.mascfumigasyon.com/dokumanlar/pestisit:ppt](http://www.mascfumigasyon.com/dokumanlar/pestisit:ppt).
- Vale, J. A.,** 1998. Toxicokinetic and Toxicodynamic Aspects of Organophosphorus (OP) Insecticide Poisoning. Toxicology Letters, 102-103: 649-652.
- Vani, T., Saharan, N., Mukherjee, S. C., Ranjan, R., Kumar, R., Brahmchari, R. K.,** 2011. Deltamethrin induced alterations of hematological and biochemical parameters in fingerlings of Catla catla (Ham.) and their amelioration by dietary supplement of vitamin C. Pesticide Biochemistry and Physiology, 101, 16–20s.
- Vural, N.,** 2005. Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No: 73, Ankara, 659s.
- Yıldız, M., Gürkan, M. O., Turgut, C., Kaya, Ü. ve Ünal, G.,** 2005. Tarımsal savaşımında kullanılan pestisitlerin yol açtığı çevre sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongre, Ankara.
- Yılmaz, B.,** 1984. Fizyoloji. Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti. Ankara, 609s.
- Yiğit, R.,** 2001. Kardiyopulmoner ve Kan Fizyolojisi. Nobel Tıp Kitapevleri. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi ders Kitapları, İstanbul, 239.
- Yonar, M. E., Mişe Yonar, S., Ural, M.Ş., Silici, S., Düşükcan, M.,** 2012. Protective role of propolis in chlorpyrifos-induced changes in the haematological parameters and the oxidative/antioxidative status of Cyprinus carpio carpio. Food and Chemical Toxicology, 50, 2703-2708.
- Zar, J. H.,** 1984. Biostatistical analysis. Prentice Hall, Inc, New Jersey, 718 p.

## **ÖZGEÇMİŞ**

Elazığ'da 10.10.1987 tarihinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 2005 yılında Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde lisans eğitimime başladım ve 2009 yılında bu fakülteden mezun oldum. Aynı yılın güz döneminde Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı Balık Hastalıkları Bilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimime başladım. Halen bu öğrenimime devam etmekteyim. Tunceli Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'ne 16.02.2010 tarihinde Araştırma Görevlisi olarak atandım. Evliyim.

**Ayşegül PALA**