T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEŞİTLİ PESTİSİTLERİN *Oreochromis niloticus*'DA NEDEN OLDUĞU HİSTOPATOLOJİK ETKİLER VE BU ETKİLERİN IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOPLARI İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Pelin UĞURLU

DOKTORA TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR

Nisan-2017

T.C

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

DİYARBAKIR

Pelin UĞURLU tarafından yapılan "Çeşitli Pestisitlerin *Oreochromis niloticus*'da Neden Olduğu Histopatolojik Etkiler ve Bu Etkilerin Işık ve Elektron Mikroskopları ile Değerlendirilmesi" konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim Dalında DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyesinin

Ünvanı	Adı Soyadı
Başkan:	Prof. Dr. Erhan ÜNLÜ
Üye :	Prof. Dr. Mahmut YANAR
Üye :	Prof. Dr. M. Aydın KETANİ
Üye :	Prof. Dr. Elif İpek SATAR
Üye :	Yrd. Doç. Dr. Semra KAÇAR

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 21/04/2017

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

.../...../201..

Doç.Dr. Sevtap SÜMER EKER

ENSTİTÜ MÜDÜR V.

(MÜHÜR)

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmamda değerli bilgilerini, yardımlarını esirgemeyen, cesaretlendiren ve yol gösteren değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Elif İpek SATAR'a;

Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Hidrobiyoloji ve Sucul Toksikoloji Araştırma Laboratuvarı'nın tüm imkanlarını bana açmakla kalmayıp çalışmamın her aşamasında desteklerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Erhan ÜNLÜ'ye;

Çalışmama yaptığı katkılardan dolayı Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Mahmut YANAR'a;

Tezimin deney aşamasında çalıştığım Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DÜBTAM)'nin tüm olanaklarından faydalanmamı sağlayan Sayın Prof. Dr. Hamdi TEMEL'e;

Çalışmamın her aşamasında bana değerli tecrübeleriyle yol gösteren ve yardım eden elektron mikroskobu teknikeri Sayın Süreyya KAÇAR'a;

Laboratuvar çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan Arş. Gör. Dr. Tarık ÇİÇEK'e;

Doktora çalışmamda yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşım Yeter KAN KOÇ'a;

Tezimin hazırlanması aşamasında yardımlarını esirgemeyen değerli çalışma arkadaşım Arş. Gör. Dr. Özlem DEMİRCİ TURGUNBAYER'e;

Doktora tez çalışmamın her aşamasında benden manevi desteklerini esirgemeyen mesai arkadaşlarım Arş. Gör. Eda ÇAVUŞ KAYA ve Arş. Gör. Canan AYTUĞ AVA'ya;

Çalışmam süresince beni sabırla ve koşulsuz destekleyen sevgili annem ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak çalışmamıza vermiş olduğu maddi destekten dolayı Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK/114Z730) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

		Sayfa
TEŞEKKÜR……		I
İÇİNDEKİLER…….....		II
ÖZET……...		VI
ABSTRACT..……..		VIII
ÇİZELGE LİSTESİ..……		X
ŞEKİL LİSTESİ..……...		XI
KISALTMA VE SİMGELER..……		XXII
1.	**GİRİŞ…**……..	1
2.	**KAYNAK ÖZETLERİ…..**……...	5
2.1.	Pestisitler…..……..…….....	6
2.1.1.	Pestisit Kullanımının Tarihçesi.…….....	8
2.1.2.	Pestisitlerin sınıflandırılması.……..	9
2.2.	Çalışmada kullanılan pestisitler…..…….	11
2.2.1.	Carbaryl.……..	11
2.2.2.	Diazinon.……	13
2.2.3.	Atrazin….……	15
2.2.4.	Lambda-cyhalothrin…..…….....	17
2.3.	Deneysel Bir Model Olarak *Orechromis niloticus* (Linnaeus, 1758).....……	19
2.4.	Biyobelirteç Olarak Histolojik ve Ultrasütrüktürel İnceleme…….……	20
2.4.1.	Biyobelirteçlerin Sınıflandırılması……..……	21
2.4.2.	Biyobelirteç Olarak Histolojik İnceleme…..…….....	22
2.4.3.	Biyobelirteç Olarak Ultrasükrüktürel İnceleme……..……	26
3.	**MATERYAL VE METOT……...**…….	29
3.1.	Deneylerde Kullanılacak Canlıların Elde Edilmesi ve Laboratuar Koşullarına Adapte Edilmesi……..……	29
3.2.	Deney Düzeneklerinin Hazırlanması...……	30
3.3.	Histolojik Preparatların Hazırlanması……..…….....	31

3.4. Geçirmeli Elektron Mikroskobu (TEM) Analizleri…..…….. 31

3.4.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler…..…… 31

3.4.2. Elektron Mikroskobunda Kullanılan Kimyasal Maddelerin İçerikleri ve Hazırlanması…….... 32

3.4.2.1 Osmium Tetroksit'in Hazırlanması…..…… 32

3.4.2.2 Araldit'in Hazırlanması…..……..…… 32

3.4.2.3 Toluidin Blue boyasının hazırlanması…..……..... 32

3.4.2.4 Kurşun nitrat hazırlanması……..……. 32

3.4.2.5 Uranil asetat hazırlanması…….……... 33

3.4.3. Örneklerin Elektron Mikroskobu İncelemesi için Hazırlanması…..……..... 33

3.4.4. Yarı İnce Kesitlerin Alınması…….. 33

3.4.5. İnce Kesitlerin Alınması…….. 33

3.4.6. Örneklerin Geçirmeli Elektron Mikroskobunda (TEM) İncelenmesi..…… 34

3.5. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizleri…..……. 34

3.6. Verilerin değerlendirilmesi ve sonuçlandırılması...……. 34

4. BULGULAR VE TARTIŞMA..…… 35

4.1. Histopatolojik Bulgular…..……. 35

4.1.1. Solungaçlar…….……. 35

4.1.1.1 Carbaryl Grubunda Belirlenen Histopatolojik Bulgular…….. 35

4.1.1.2 Diazinon Grubunda Belirlenen Histopatolojik Bulgular……. 36

4.1.1.3 Lambda-cyhalothrin Grubunda Belirlenen Histopatolojik Bulgular……... 36

4.1.1.4 Atrazin Grubunda Belirlenen Histopatolojik Bulgular…… 37

4.1.2. Böbrek…..…… 48

4.1.2.1 Carbaryl Grubunda Belirlenen Histopatolojik Bulgular…….. 48

4.1.2.2 Diazinon Grubunda Belirlenen Histopatolojik Bulgular……. 49

4.1.2.3 Lambda-cyhalothrin Grubunda Belirlenen Histopatolojik Bulgular…… 49

4.1.2.4 Atrazin Grubunda Belirlenen Histopatolojik Bulgular…… 50

4.1.3. Karaciğer……..…… 61

4.1.3.1 Carbaryl Grubunda Belirlenen Histopatolojik Bulgular…….. 61

4.1.3.2 Diazinon Grubunda Belirlenen Histopatolojik Bulgular……. 61

4.1.3.3 Lambda-cyhalothrin Grubunda Belirlenen Histopatolojik Bulgular…….. 62
4.1.3.4 Atrazin Grubunda Belirlenen Histopatolojik Bulgular…… 62
4.1.4. Gonadlar……. 73
4.1.4.1 Carbaryl Grubunda Belirlenen Histopatolojik Bulgular…….. 73
4.1.4.2 Diazinon Grubunda Belirlenen Histopatolojik Bulgular…… 73
4.1.4.3 Lambda-cyhalothrin Grubunda Belirlenen Histopatolojik Bulgular…….. 74
4.1.4.4 Atrazin Grubunda Belirlenen Histopatolojik Bulgular…… 74
4.2. Sitopatolojik [Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM)] Bulgular..…… 84
4.2.1. Solungaçlar……. 84
4.2.1.1 Carbaryl Grubunda Belirlenen Sitopatolojik Bulgular…… 86
4.2.1.2 Diazinon Grubunda Belirlenen Sitopatolojik Bulgular…… 87
4.2.1.3 Lambda-cyhalothrin Grubunda Belirlenen Sitopatolojik Bulgular……. 87
4.2.1.4 Atrazin Grubunda Belirlenen Sitopatolojik Bulgular……. 88
4.2.2. Böbrek……. 110
4.2.2.1 Carbaryl Grubunda Belirlenen Sitopatolojik Bulgular…… 112
4.2.2.2 Diazinon Grubunda Belirlenen Sitopatolojik Bulgular…… 112
4.2.2.3 Lambda-cyhalothrin Grubunda Belirlenen Sitopatolojik Bulgular……. 113
4.2.2.4 Atrazin Grubunda Belirlenen Sitopatolojik Bulgular…….. 113
4.2.3. Karaciğer……..……... 132
4.2.3.1 Carbaryl Grubunda Belirlenen Sitopatolojik Bulgular…… 133
4.2.3.2 Diazinon Grubunda Belirlenen Sitopatolojik Bulgular……..... 133
4.2.3.3 Lambda-cyhalothrin Grubunda Belirlenen Sitopatolojik Bulgular…….. 133
4.2.3.4 Atrazin Grubunda Belirlenen Sitopatolojik Bulgular…….. 134
4.2.5. Gonadlar……..…… 148
4.2.4.1 Carbaryl Grubunda Belirlenen Sitopatolojik Bulgular…… 149
4.2.4.2 Diazinon Grubunda Belirlenen Sitopatolojik Bulgular……... 150
4.2.4.3 Lambda-cyhalothrin Grubunda Belirlenen Sitopatolojik Bulgular……. 150
4.2.4.4 Atrazin Grubunda Belirlenen Sitopatolojik Bulgular…….. 150
4.3. Ultrasütrüktürel [Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)] Bulgular…..……. 162

4.3.1. Carbaryl Grubunda Belirlenen Ultrasütrüktürel Değişimler……..... 164
4.3.2. Diazinon Grubunda Belirlenen Ultrasütrüktürel Değişimler…… 164
4.3.3. Lambda-cyhalothrin Grubunda Belirlenen Ultrasütrüktürel Değişimler…….. 164
4.3.4. Atrazin Grubunda Belirlenen Ultrasütrüktürel Değişimler…….. 165
5. SONUÇ VE ÖNERİLER…..……..... 173
5.1. Histopatolojik Çalışma…..……..... 173
5.2. Sitopatolojik [Geçirmeli Elektron Mikroskobu (TEM)] Çalışma…… 177
5.3. Ultrasütrüktürel [Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)] Çalışma…..…… 182
6. KAYNAKLAR……..……..... 185
ÖZGEÇMİŞ…….. 213

ÖZET

ÇEŞİTLİ PESTİSİTLERİN *Oreochromis niloticus*'DA NEDEN OLDUĞU HİSTOPATOLOJİK ETKİLER VE BU ETKİLERİN IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOPLARI İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

DOKTORA TEZİ

Pelin UĞURLU

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

2017

Pestisitler başta zirai mücadele olmak üzere birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak önemli yararları olan bu maddelerin birçok zararlı yönleri de bulunmaktadır. Pestisitler kullanıldıkları alanlardan ve üretildikleri tesislerden çeşitli yollarla doğal ortamlara ulaşarak, ekolojik problemlere yol açmaktadır. Bu nedenle doğal ortamlara bulaşan kirleticilerin, bu ortamlarda yaşayan organizmalar üzerinde ne tür etkiler yapabileceğini bilmemiz gerekmektedir.

Pestisitlerin organizmalar üzerindeki etkilerinin araştırılmasında çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler içerisinde en iyi sonuç veren, ortam koşullarına benzer şartlarda uygulanan toksikolojik testlerdir. Uygulanan toksikolojik testler sonucunda elde edilen sonuçlar analiz edilir ve pestisitlerin canlılar üzerindeki olumsuz etkileri belirlenir. Dolayısıyla bu olumsuz etkilere karşı gerekli önlemler alınabilir.

Organların ultrasütrüktürel ve histopatolojik incelemeleri çevresel risk değerlendirme çalışmalarında biyobelirteç olarak sıklıkla kullanılırlar. Çevresel kirleticilerin yapısal-fonksiyonel ilişkiler üzerindeki etkisi şiddetli olabilir. Pestisitler gibi kirleticiler bu ilişkiyi bir arada tutan hassas dengeye zarar verebilir. Bu bağlamda canlıların organlarında meydana gelen ultrasütrüktürel yanıtlar organizmaların sağlık durumunu ve çevresel kirleticilerin canlıda meydana getirdiği etkileri belirlemek için önemli ve kullanışlı bir araçtır.

Sucul sistemlerde balıklar genellikle bu sistemlerde meydana gelen çevresel kirleticilerin etkisini belirlemede sıklıkla kullanılırlar. Elektron mikroskobik araştırmalar; analitik veya kimyasal metotlarla belirlenemeyen çok düşük konsantrasyonlardaki kirleticilerin ve bilinmeyen bir olay neticesinde günler ya da haftalar sonra ortaya çıkan kötü su kalitesi durumlarından kaynaklanan metabolik bozulmaların teşhisinde etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Canlılarda meydana gelen ultrasütrüktürel ve sitopatolojik yanıtlar çevresel kirlenmeyi belirlemek için kullanışlı olan kimyasalların çevresel etkilerini belirlemek için yeterince hassastırlar. Histopatolojik ve ultrasütrüktürel etkiler de dahil olmak üzere hücresel biyobelirteçler canlının iç kimyasında meydana gelen biyokimyasal etkiler ile bireysel ya da popülasyonda meydana gelen etkiler arasında önemli bir bağlantı sağlamaktadır. Bu tür yanıtlar tipik olarak davranış değişikliklerinden önce meydana gelirler ve büyüme ya da üreme parametrelerinden daha hassastırlar. Ayrıca bütünleştirici parametreler olarak tek bir biyokimyasal yanıtın değerlendirilmesinden, bir canlının sağlık durumu hakkında, daha fazla bilgi verirler.

Bu çalışmanın amacı, Carbaryl, Diazinon, lamda-cyhalothrin ve Atrazine standartlarına maruz bırakılan *Oreochromis niloticus* bireylerinin organ (solungaç, karaciğer, böbrek) ve gonad (testisler) histolojisinde meydana gelen değişiklikleri ışık ve elektron mikroskoplarıyla ayrıntılı bir şekilde saptamaktır.

Çalışmanın ilk aşamasında canlılar adı geçen pestisitlerin belli konsantrasyonlarına 21 gün süresince maruz bırakılmış ve canlı dokularında meydana gelen histopatolojik değişiklikler ışık mikroskobuyla belirlenmiştir. Daha sonra ultrasütrüktürel ve sitopatolojik değişiklikler Geçirimli (TEM) ve Taramalı (SEM) elektron mikroskoplarıyla incelenmiştir.

Çalışma sonucunda etkisine baktığımız bütün pestisitlerin *O. niloticus* bireylerinin dokularında hem histopatolojik hem de sitopatolojik değişiklikler meydana getirdiği gözlenmiştir. Pestisitler arasında en fazla ve hızlı patolojik etkiyi Lambda-cyhalothrin göstermiştir. Ayrıca maruz kalmış canlılarda meydana gelen patolojik değişimlerin çoğunun metabolik savunma tepkileri olduğu belirlenmiştir. Pestisitlerin konsantrasyona bağlı olarak, maruziyet süresi arttıkça canlılarda gözlenen patolojilerin şiddeti paralel olarak artmıştır. Yaptığımız çalışmalar sonucunda sitopatolojik değişimlerin histopatolojik ve ultrasütrüktürer patolojilerden önce meydana geldiği gözlenmiştir. Çalışmamız için seçtiğimiz balık organları bir kirleticinin etkisinin belirlenmesinde uygun biyobelirteçler olarak önerilebilir. Buna ek olarak çalışmamız sırasında elektron mikroskoplarının kirleticilerin erken etkilerinin belirlenmesinde oldukça kullanışlı oldukları gözlenmiştir. Ancak kirleticilerin daha erken etkilerini belirlemek için daha ayrıntılı, moleküler ve gen ekspresyonu düzeyinde, araştırmaların yapılması ihtiyacı olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Oreochromis niloticus*, Sitopatoloji, Histopatoloji, Ultrasütrüktür, Pestisit, TEM, SEM, Atrazin, Diazinon, Lambda-cyhalothrin, Carbaryl.

ABSTRACT

THE HISTOPATHOLOGICAL EFFECTS OF SOME PESTICIDES ON *Oreochromis niloticus* AND DETERMINATION OF THEESE EFFECTS WITH LIGHT AND ELECTRON MICROSCOPES

PHD THESIS

Pelin UĞURLU

DEPARTMENT OF BIOLOGY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF DICLE

2017

Pesticides are widely used in many area but mainly in agricultural combat. However these compounds, which have significant advantages, they also have many harmful effects on the environment. Pesticides cause ecological problems by reaching natural environments from the places where they are used or produced. Therefore, we should know the possible effects of the pollutants which contaminate the natural environments on organisms living in those environments.

Several methods are used to determine the effects of pesticides on organisms. In these methods, the toxicological tests applied in similar conditions give the best results. The results that gained from toxicological tests are analized and the adverse effects of pesticides on organisms are determined. So necesary measures against these adverse effects can be applied.

The ultrastructural and histopathological investigation of organs has been widely used as a biomarker in Environmental Risk Assessment studies. The impact of environmental pollutants on the form-function relationship can be severe. Pollutants such as pesticides can easily disrupt the fragile thread which keeps this relationship intact. In this regard, ultrastructural reponses in the organs of living organisms are important and useful tools to determine the health condition and the effects of pollutants on the organisms.

In the aquatic enviroments, fish is usually regarded as organisms of choice for assessing the effects of environmental pollution on aquatic ecosystems. Electron microscopic investigations can therefore effectively contribute to diagnosis of metabolic disturbances resulting either from low concentrations of contaminants which are not normally detected by standart chemical or analytical methods or from poor water quality conditions which ocur days or weeks after an uncertain event .Ultrastructural and cytopathological responses are sensetive enough to indicate early effects on the organisms to low concentrations of chemicals which makes them potentially useful biomarkers to assess environmental pollution. Cellular biomarkers including histopathological and ultrastructural effects represent an intermadiate level of biological organization between lower-level biochemical effects and higher-level individual and population effects. These types of responses typically ocur earlier than behavioral changes and are sensitive than growth or reproductive parameters and integrative parameters, provide a beter evaluation of organism health than a single biochemical response.

The aim of this study is to determine possible alterations in organ (gills, liver, kidney) and gonad (testis) histology of *Oreochromis niloticus* individuals exposed to certain

concentrations of Carbaryl, Diazinon, Lambda-cyhalothrin and Atrazine standarts with light and electron microscopes.

At the first step of the study, the fish were exposed to certain concentrations of pestisdes mentioned before for 21 days and the histopatological alterations occuring in the tissues of organisms were determined by light microscope. Afterwards, ultrastructural and cytopathological changes were investigated by Scanning and Transmission Electron Microscopes (SEM and TEM).

At the end of the study, it was observed that all pesticides which we evaluated their effects caused both histopathological and cytopathological changes in the tissues of *O. niloticus* individuals. Among the evaluated pesticides, Lambda-cyhalothrin showed the fastest and the most severe pathological effects. Also, it has been determined that the most of the pathological changes in the exposed organisms are the metabolic defensive reactions. Depending on the pesticide concentration, as the exposure time increased, the severity of the pathologies observed in living organisims increased in parallel. As a result of our studies, it was observed that cytopathologic changes occurred before histopathologic and ultrastructural pathologies. The fish organs which we have chosen for our work can be suggested as suitable biomarkers in determining the effect of a pollutant. In addition, during our study, it was observed that electron microscopes were very useful in determining early effects of pollutants. However, it is thought that more detailed studies, at molecular and gene expression levels, are needed to determine the earlier effects of pollutants.

Key Words: *Oreochromis niloticus*, Cytopathology, Histopathology, Ultrastructure, Pesticide, TEM, SEM, Atrazine, Diazinon, Lambda-cyhalothrin, Carbaryl

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge No		Sayfa
Çizelge 2.1.	Dünyada bazı ülke ve kıtalarda kişi başına düşen kullanılabilir su miktarı	5
Çizelge 3.1.	Çalışma için belirlenen gruplar	30

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 2.1.	Pestisitlerin su ekosistemi besin zincirinde hareketi	7
Şekil 2.2.	Carbaryl'in moleküler yapısı	11
Şekil 2.3.	Diazinon'un moleküler yapısı	14
Şekil 2.4.	Atrazin'in moleküler yapısı	15
Şekil 2.5.	Lambda-cyhalothrin'in moleküler yapısı	18
Şekil 2.6.	*Oreochromis niloticus*	20
Şekil 4.1a.	Kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin solungaç yapısı	41
Şekil 4.1b	Aseton kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin solungaç yapısı	41
Şekil 4.2.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	42
Şekil 4.3.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	42
Şekil 4.4.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	43
Şekil 4.5.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	43
Şekil 4.6.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	44
Şekil 4.7.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	44
Şekil 4.8.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	45
Şekil 4.9.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	45
Şekil 4.10.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	46

Şekil 4.11.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	46
Şekil 4.12.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	47
Şekil 4.13.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	47
Şekil 4.14a.	Kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin böbrek yapısı	54
Şekil 4.14b.	Aseton kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin böbrek yapısı	54
Şekil 4.15.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	55
Şekil 4.16.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	55
Şekil 4.17.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	56
Şekil 4.18.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	56
Şekil 4.19.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	57
Şekil 4.20.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	57
Şekil 4.21.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	58
Şekil 4.22.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	58
Şekil 4.23.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	59
Şekil 4.24.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	59

Şekil 4.25.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	60
Şekil 4.26.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	60
Şekil 4.27a.	Kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin karaciğer yapısı	66
Şekil 4.27b.	Aseton kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin karaciğer yapısı	66
Şekil 4.28.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	67
Şekil 4.29.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	67
Şekil 4.30.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	68
Şekil 4.31.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	68
Şekil 4.32.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	69
Şekil 4.33.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	69
Şekil 4.34.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	70
Şekil 4.35.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	70
Şekil 4.36.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	71
Şekil 4.37.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	71
Şekil 4.38.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	72

Şekil 4.39.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	72
Şekil 4.40a.	Kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin testis yapısı	77
Şekil 4.40b.	Aseton kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin testis yapısı	77
Şekil 4.41.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	78
Şekil 4.42.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	78
Şekil 4.43.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	79
Şekil 4.44.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	79
Şekil 4.45.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	80
Şekil 4.46.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	80
Şekil 4.47.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	81
Şekil 4.48.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	81
Şekil 4.49.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	82
Şekil 4.50.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	82
Şekil 4.51.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	83
Şekil 4.52.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler	83
Şekil 4.53a.	Kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin Pillar hücresi yapısı	92
Şekil 4.53b.	Aseton kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin Pillar hücresi yapısı	92
Şekil 4.54a.	Kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin Goblet hücresi yapısı	93
Şekil 4.54b.	Aseton kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin Goblet hücresi yapısı	93

Şekil 4.55a.	Kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin Klorid hücresi (MRCs) yapısı	94
Şekil 4.55b.	Aseton kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin Klorid hücresi (MRCs) yapısı	94
Şekil 4.56.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	95
Şekil 4.57.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	95
Şekil 4.58.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	96
Şekil 4.59.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	96
Şekil 4.60.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	97
Şekil 4.61.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	97
Şekil 4.62.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	98
Şekil 4.63.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	98
Şekil 4.64.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	99
Şekil 4.65.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	99
Şekil 4.66.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	100
Şekil 4.67.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	100
Şekil 4.68.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	101

Şekil 4.69.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	101
Şekil 4.70.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	102
Şekil 4.71.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	102
Şekil 4.72.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	103
Şekil 4.73.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	103
Şekil 4.74.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	104
Şekil 4.75.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	104
Şekil 4.76.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	105
Şekil 4.77.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	105
Şekil 4.78.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	106
Şekil 4.79.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	106
Şekil 4.80.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	107
Şekil 4.81.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	107
Şekil 4.82.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	108

Şekil 4.83.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	108
Şekil 4.84.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	109
Şekil 4.85a.	Kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin glomerulus hücrelerinin yapısı	118
Şekil 4.85b.	Aseton kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin glomerulus hücrelerinin yapısı	118
Şekil 4.86a.	Kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin proksimal tübül hücrelerinin yapısı	119
Şekil 4.86b.	Aseton kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin proksimal tübül hücrelerinin yapısı	119
Şekil 4.87.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	120
Şekil 4.88.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	120
Şekil 4.89.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	121
Şekil 4.90.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	121
Şekil 4.91.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	122
Şekil 4.92.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	122
Şekil 4.93.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	123
Şekil 4.94.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	123
Şekil 4.95.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	124
Şekil 4.96.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	124
Şekil 4.97.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	125

Şekil 4.98.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	125
Şekil 4.99.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	126
Şekil 4.100.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	126
Şekil 4.101.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	127
Şekil 4.102.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	127
Şekil 4.103.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	128
Şekil 4.104.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	128
Şekil 4.105.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	129
Şekil 4.106.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	129
Şekil 4.107.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	130
Şekil 4.108.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	130
Şekil 4.109.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	131
Şekil 4.110a.	Kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin hepatositlerine ait yapı	138
Şekil 4.110b.	Aseton kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin hepatositlerine ait yapı	139
Şekil 4.111.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	139
Şekil 4.112.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	140
Şekil 4.113.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	140

Şekil 4.114.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	141
Şekil 4.115.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	141
Şekil 4.116.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	142
Şekil 4.117.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	142
Şekil 4.118.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	143
Şekil 4.119.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	143
Şekil 4.120.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	144
Şekil 4.121.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	144
Şekil 4.122.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	145
Şekil 4.123.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	145
Şekil 4.124.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	146
Şekil 4.125.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	146
Şekil 4.126.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	147
Şekil 4.127.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	147
Şekil 4.128a.	Kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin Sertoli hücrelerinin yapısı	152
Şekil 4.128b.	Aseton kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin Sertoli hücrelerinin yapısı	153
Şekil 4.129a.	Kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin spermlerinin yapısı	153
Şekil 4.129b.	Aseton kontrol grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin spermlerinin yapısı	154

Şekil 4.130.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	154
Şekil 4.131.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	155
Şekil 4.132.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	155
Şekil 4.133.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	156
Şekil 4.134.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	156
Şekil 4.135.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	157
Şekil 4.136.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	157
Şekil 4.137.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	158
Şekil 4.138.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	158
Şekil 4.139.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	159
Şekil 4.140.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	159
Şekil 4.141.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	160
Şekil 4.142.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	160
Şekil 4.143.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler	161
Şekil 4.144a.	Kontrol grubuna *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarının ultrasükrüktürel yapısı	166
Şekil 4.144b.	Aseton kontrol grubuna *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarının ultrasükrüktürel yapısı	166
Şekil 4.145.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen ultrasükrüktürel değişiklikler	167

Şekil 4.146.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen ultrasükrüktürel değişiklikler	167
Şekil 4.147.	850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen ultrasükrüktürel değişiklikler	168
Şekil 4.148.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen uştrasükrüktürel değişiklikler	168
Şekil 4.149.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen uştrasükrüktürel değişiklikler	169
Şekil 4.150.	280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen uştrasükrüktürel değişiklikler	169
Şekil 4.151.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen ultrasütrüktürel değişiklikler	170
Şekil 4.152.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen ultrasütrüktürel değişiklikler	170
Şekil 4.153.	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen ultrasütrüktürel değişiklikler	171
Şekil 4.154.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen ultrastruktürel değişiklikler	171
Şekil 4.155.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen ultrastruktürel değişiklikler	172
Şekil 4.156.	0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen ultrastruktürel değişiklikler	172

KISALTMA VE SİMGELER

µg:	Mikrogram
ACh	Asetilkolin
AChE:	Asetilkolin esteraz
CAT:	Katalaz
DDT:	Diklorodifeniltrikloroetan
EPA	Çevre Koruma Dairesi (U.S. Environmental Protection Agency)
ER	Endoplazmik retikulum
GABA	Gamma-aminobutirik asit
GER	Granüllü Endoplazmik Retikulum
gr	Gram
GsER	Granülsüz Endoplazmik Retikulum
GSH	Redükte Glutatyon
L	Litre
LC_{50}	Test hayvanlarının yarısını öldürmek için gerekli konsantrasyon
m^3	Metre küp
mg:	Miligram
MRCs	Klorid Hücresi (Mitochondria Rich Cell)
O. niloticus	*Oreochromis niloticus*
OP	Organo Fosfat insektisitler
PCB	Poliklorlu bifeniller
ppb	Milyarda bir birim
ppm:	Milyonda bir birim
PVC	Oksijen alış-verişinden sorumlu hücre (Pavement Cell)
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscopy)
SOD:	Süperoksit dismutaz
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskobu (Transmission Electron Microscopy)
WHO	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)

1. GİRİŞ

Günümüzde dünyanın en önemli problemlerinden biri açlıktır. 150 milyon km^2'lik toplam dünya topraklarının %10'u ekilebilir tarım arazisidir. Bu toprakların %55'i mera, çayır ve ormanlarla kaplıdır. Geri kalan topraklar ise tarıma elverişli değildir (Devine ve Furlong 2007). Tarımsal üretimin Avrupa, Asya, Amerika ve Avustralya'da hızlıca artmasına rağmen, Afrika'nın toplam verimi çetin kuraklık, sivil huzursuzluk, toprakların bozulması, zayıf zirai metotlar ve elverişsiz toprak yapısı yüzünden düşmeye devam etmektedir. Artan nüfusun taleplerini karşılayamayan gıda sektörü bu durum karşısında birim alandan elde edilen ürün miktarını arttırmaya çalışmaktadır. Özellikle tarımda zararlılara karşı kullanılan mekanik, fiziksel, biyolojik, biyoteknik, kimyasal ve entegre yöntemler zaten dünyada çok az bulunan ekilebilir tarım arazilerinden elde edilen ürün miktarını arttırmaya yönelik uygulanmaktadır.

Kimyasal yöntemler dünyada en fazla kullanılan tarımsal mücadele yöntemleridir. Çünkü kimyasal savaşım yüksek etkiye sahiptir, hızlı sonuç verir, bilinçli ve kontrollü kullanıldığında ekonomiktir (De Waard ve ark. 1993). Kimyasal mücadelenin temelinde pestisit denilen yapay zirai ilaçlar, pestisitler, vardır.

İdeal bir pestisitin;

- İstenmeyen zararlıyı kontrol edebilmesi,
- Hedef alınmayan canlıya zarar vermemesi yani seçici olması,
- Uygun bir zaman sürecinde ekolojik olarak kabul edilebilir ürünlere dönüşmesi,
- Uygulama alanında kalabilmesi,
- Çevrede birikme potansiyelinin olmaması gibi özelliklere sahip olması gerekmektedir.

Dünya'da çok fazla kullanılan pestisitler tarımsal verimin arttırılmasında önemli bir yere sahiptirler. Ancak, pestisitlerin bilinçsiz ve kontrolsüz kullanımı sonucu, zararlı organizmalarda dayanıklılık oluşturabilme riskleri ve kalıntılar yoluyla insan sağlığına ve çevreye olumsuz etkileri kesinlikle göz ardı edilmemelidir (Delen ve ark. 2005). Bilinçsiz pestisit kullanımı sonucunda insan, hava, su, toprak ve yabani hayat olumsuz etkilenmekte, hedef alınan canlılarda direnç oluşmakta, yararlı canlılar ve doğal hayatın

öldürülmesiyle doğal denge bozulmakta ve bitkilerde fitotoksisite görülmektedir (Yıldırım 2008). Yoğun tarım, hava ve yüzey sularının kirlenmesine, su sistemlerinin ötrifikasyonuna, sera gazları emisyonlarına ve asit yağmurlarına neden olmaktadır (Devine ve Furlong 2007).

Tarım arazilerinde kullanılan pestisitler, ilaçlanmış bitki ve toprak yüzeylerinden ilaçların yağmur sularıyla yıkanması ve sulama için kullanılan suyun yanlış sulama yöntemleri yüzünden temiz su kaynaklarına ulaşır. Zamanı geçmiş ve kullanılamaz pestisitlerin ambalaj ve torbalarının temiz su kaynaklarında yıkanarak çevreye atılması diğer bir kirlenme sebebidir. Ayrıca ilaçla bulaşan atmosferdeki katı ve sıvı ilaç taneciklerinin su kaynaklarına taşınması sonucunda da sular etkilenir. Kirlenen sularda yaşayan canlılar pestisite maruz kalarak akut ve kronik olarak etkilenirler (Leight ve Van Dolah 1999, Boatengl ve ark. 2006, Cengiz 2006).

Hemen bütün pestisitler spesifik olmadıkları için sadece hedef organizmaları öldürmez, omurgalı ve omurgasız diğer organizmaları da etkilerler. Zararlı etkilerin şiddeti, pestisidin ve formülasyonun tipine, uygulama şekline ve tarımsal arazinin tipine bağlı olarak değişmektedir.

Pestisit kaynaklı değişiklikler canlının yapısında meydana gelen bozukluklardan kaynaklanır. Bu bozuklukları belirlemek için biyokimyasal, histolojik ve moleküler incelemeler yapılmalıdır.

Histolojik inceleme; kirleticilere maruz kalmanın bir indikatörü olarak, özellikle subletal ve kronik etkiler için kirlilik derecesini değerlendirmede yararlı bir yöntemdir (Bernet ve ark. 1999) çünkü pestisitlerin eser seviyeleri, verilen bir periyotta hayvanın ölümüne neden olmaz, fakat bu seviyeler, organlarda önemli zararlar meydana getirme etkisinde olabilirler (Kumar ve Pant 1984). Kirleticilere maruz kalmadan dolayı en büyük yapısal zararlar hedef organlarda olabilir. Histolojik yapı değişebilir ve fizyolojik stres meydana gelebilir. Bu stres metabolik fonksiyonlarda bazı değişikliklere sebep olabilir. Fonksiyonlardaki değişiklikler hücresel seviye ve dokulardaki değişikliklerle başlatılır. Su ekosistemlerinde meydana gelen bir kirlenmeyi belirlemek için örnek canlılarda yapılacak histolojik incelemeler, o ekosistemin sağlığı açısından bize yararlı bilgiler sunabilir. Bu bağlamda özellikle balıklar toksikolojik patoloji ve akuatik ekosistemlerin sağlığını değerlendirmek için yaygın bir şekilde kullanılan yararlı deneysel modellerdir

(Garcia-Santos ve ark. 2006). Çalışmamızda deneysel model olarak değerlendirdiğimiz *Oreochromis niloticus*, kültür koşullarında bakım ve beslenmeye uygun olmaları, üremelerinin kolay olması, kirlenme ve çeşitli hastalıklara karşı dirençli olmaları yüzünden iyi biyolojik model olarak tanınan balıkların en önemli gruplarından birine aittir. Son yıllarda *O. niloticus* sucul çevredeki kirleticilerin biyolojik etkilerini incelemek için indikatör organizmalar olarak kullanılmaktadır (Almedia 2002).

Histopatolojik ve ultrasükrüktürel etkiler de dahil olmak üzere hücresel biyomarkerlar canlının iç kimyasında meydana gelen biyobimyasal etkiler ile bireysel ya da popülasyonda meydana gelen yanıtlar arasında önemli bir bağlantı sağlamaktadır. Bu tür yanıtlar tipik olarak davranış değişikliklerinden önce meydana gelirler ve büyüme ya da üreme parametrelerinden daha hassastırlar. Ayrıca bütünleştirici parametreler olarak, bir canlının sağlık durumu hakkında, tek bir biyokimyasal yanıtın değerlendirilmesinden daha fazla bilgi verirler (Segner ve Braunbeck 1998).

Elektron mikroskobik araştırmalar; analitik veya kimyasal metotlarla belirlenemeyen çok düşük konsantrasyonlardaki kirleticilerin ve bilinmeyen bir olay sebebiyle günler ya da haftalar sonra ortaya çıkan kötü su kalitesi durumlarından kaynaklanan metabolik bozulmaların teşhisinde etkili bir şekilde kullanılmaktadır (Braunbeck, 1998). Ultrasüktürel yanıtlar; çevresel kirlenmeyi belirlemek için kullanışlı olan kimyasalların düşük konsantrasyonlarının canlılar üzerindeki erken etkilerini göstermek için yeterince hassastırlar (Pawert ve ark., 1998).

Günümüzde canlı dokusunda meydana gelen histopatolojik değişiklikleri belirlemek için birçok yöntem kullanılmaktadır. Ancak görüntüleme sistemleri içersinde Elektron Mikroskopları daha ayrıntılı, gerçekçi ve kullanışlı bilgiler vermesi bakımından önemli bir yere sahiptir. Geçirimli Elektron Mikroskobu (Transmission Electron Microscope) (TEM), sağlık uygulamalarında, dokuyu hücresel boyutta ve hatta organel boyutunda incelemeye olanak sağladığı için kirleticilerin kronik etkilerinin daha erken safhalarının belirlenmesinde oldukça kullanışlı araçlardırlar.

Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscopy) (SEM), solungaçlarda dahil olmak üzere birçok organın yüzey ultra strüktürünü ortaya çıkarmak için kullanılan önemli bir modern araçtır (Lewis 1979, Dutta ve ark. 1997). Yüzey ultra strüktürünün belirlenmesi solungaçlar için özellikle önemlidir, çünkü gaz alışverişi

solungaçların bütün yüzeyi ile olur ve yüzey morfolojisi sistemin etkinliğinin belirlenmesi için doğru bir şekilde belirlenmelidir (Velmurugan 2011). Organın yüzey ultra yapısında meydana gelen değişiklikler ne ışık ne de Geçirimli Elektron Mikroskobu (Transmission Electron Microscopy) (TEM) ile belirlenebilir. Bu yüzden bu değişikliklerin belirlenmesi için Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) kullanılmalıdır (Dutta ve ark. 1997).

Daha önce yapılan çalışmalarda araştırmacılar, sucul bir sistemde meydana gelebilecek toksik bir kirlenmeden kaynaklanan yapısal değişiklikler ile ilgili sıklıkla ışık mikroskobuyla ilgili çalışmalara yönelmişlerdir. Bir kirleticinin etkisi sadece yapısal değildir. Yapısal etkiler canlı fizyolojisinde meydana gelen biyokimyasal süreçlerle başlar ve yapısal etkilerin daha erken safhalarını belirlemek bu biyokimyasal süreçlerin daha iyi anlaşılmasını sağlar. Daha erken sitopatolojik ve ultrasükrüktürel değişikliklerin belirlenmesi, patoloji canlının tüm vücudunda meydana gelmeden önce toksik kimyasalın etkisinin belirlenmesini ve böylece daha uygun korunma önlemlerinin alınmasını sağlar.

Ülkemizde yaygın olarak kullanılan Carbaryl, Diazinon, Lambda-cyhalothrin ve Atrazin'in çevre kirliliği ve sucul canlılar üzerindeki etkilerinin ayrıntılı bir şekilde bilinmemesi ve bu konudaki eksikliler bu çalışmanın yapılması ihtiyacını doğurmuştur. Literatürde bu pestisitlerin balıklarda meydana getirdiği histopatolojik etkiler ile iligili ışık mikroskobuyla ilgili çalışmalar vardır (Matos ve ark. 2007, Işık ve Çelik 2008, Velmurugan ve ark. 2007). Ancak bu çalışmalar sadece ışık mikroskobuyla ve bu pestisitlerin biyokimyasal etkileriyle sınırlı kalmıştır. Bu çalışmalar organel düzeyine inmemiş ve adı geçen pestisitlerin ultrasükrüktürel düzeyde meydana getirdiği etkilere dair herhangi bir bilgi verilmemiştir. Yaptığımız araştırmalar boyunca bilimsel veri tabanında bu pestistlerin *O. niloticus*'da meydana getirdiği etkilerin Elektron mikroskoplarıyla organel düzeyinde ve ultrasükrüktürel olarak incelenmesi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu bağlamda yaptığımız bu çalışma bir ilk teşkil etmektedir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Dünya üzerindeki su varlığı kesin olarak bilinmemektedir. Ancak bu konuda yapılan çeşitli araştırmalarda, dünyada yaklaşık 1388 milyon km^3 su bulunduğu, bunun 1340 milyon km^3'ünün denizlerde (%96,5), 48 milyon km^3'ünün (%3,5) karalarda olduğu belirtilmektedir. Karalardaki su miktarının 24 milyon m^3'ü buzullarda, 23 milyon m^3'ü yeraltı sularında, 1 milyon m^3'ü de tatlı su göllerinde, akarsularda, atmosfer ve diğer kaynaklarda yer almaktadır (Çepel 2003). 1940 yılında, tüm dünyada tatlı su kullanımı 1500 km^3/yıl iken, 2000 yılında bu değer 5000 km^3/yıl olmuştur. 1955 yılında su kısıtı ülkeler 7 iken, 1995 yılında bu sayı 20'ye yükselmiştir. Ayrıca bir ülkenin su zengini sayılabilmesi için kişi başına düşen yıllık su miktarı en az 8000 -10000 m^3 arasında olması gerekmektedir. Dünyada bazı ülke ve kıtalarda kişi başına düşen kullanılabilir su miktarı Çizelge 2.1.'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Dünyada bazı ülke ve kıtalarda kişi başına düşen kullanılabilir su miktarı (Akın 2008)

Ülke	Kullanılabilir su miktarı (kişi/yıl)	Kıta	Kullanılabilir su miktarı (ortalama, kişi/yıl)
Türkiye	1510 m^3	Asya	3000 m^3
İsrail	124 m^3	Batı Avrupa	5000 m^3
Irak	2020 m^3	Afrika	7000 m^3
Suriye	1200 m^3	Güney Amerika	23000 m^3
Filistin	100 m^3	Kuveyt	124 m^3
Lübnan	1300 m^3	Ürdün	138 m^3
Kanada	10000 m^3	Çin	500m^3

Su miktarı kriteri:

Su fakiri: kullanılabilir su miktarı<1000 m3/kişi

Su kısıtı: kullanılabilir su miktarı< 2000 m3/kişi

Su zengini: kullanılabilir su miktarı >8000-10000 m3/kişi

Çizelge 1'den anlaşıldığı üzere Türkiye su kısıtı bir ülkedir. Dolayısıyla ülkemizde mevcut kullanılabilir su kaynaklarının korunması oldukça önemlidir. Su kaynakları özellikle içme-kullanma, sulama, endüstri için kullanılmaktadır. Dünyada kullanılabilir suyun %65'i sulama, %25'i endüstri, %10'u içme ve kullanma amaçlı kullanılmaktadır. En fazla suyun tarım için kullanılma nedeni dünya nüfusunun her yıl 80-90 milyon kişi artması ve buna bağlı olarak gelişen tarımsal üretimdir (Çepel 2003).

2.1. Pestisitler

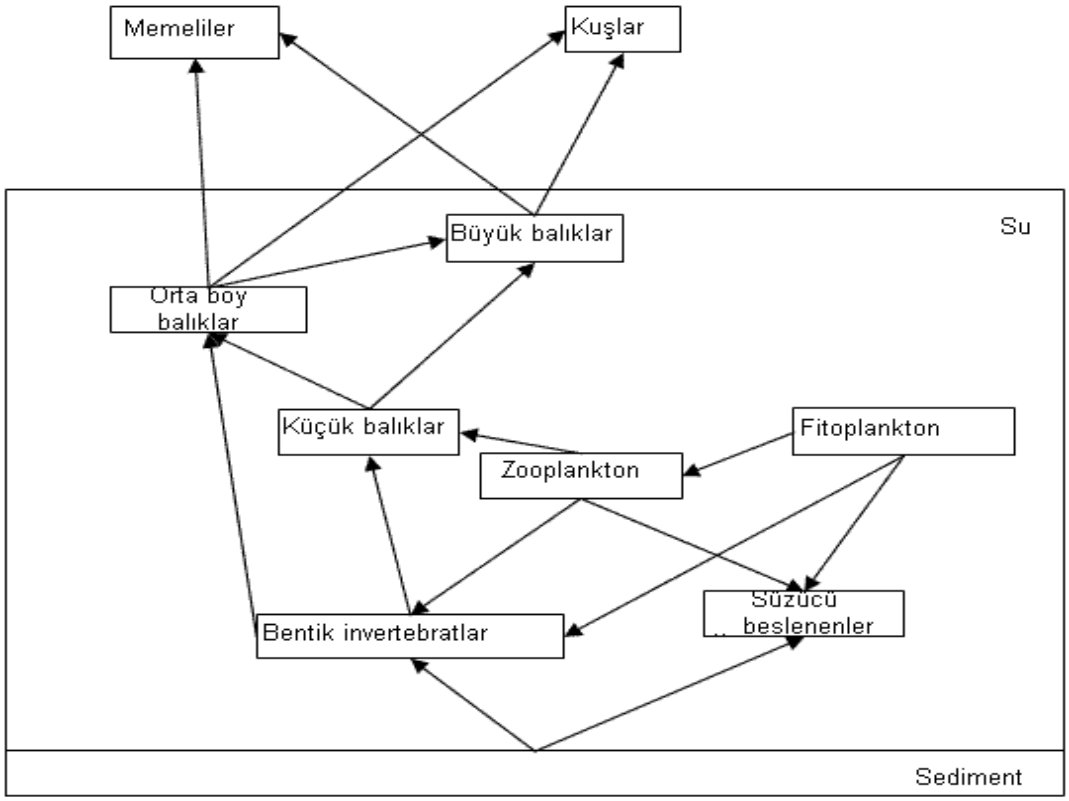
Amerikan Çevre Koruma Dairesi (U.S. Environmental Protection Agency, EPA) ne göre; tarımsal üretimi olumsuz yönde etkileyen haşereler, kemiriciler, mantarlar ve yabani otlar gibi zararlılara karşı kullanılan fiziksel, kimyasal veya biyolojik ajanlara pestisit denir (Klaassen 2001). Bu amaçla kullanılan pestisitler hedef alınmayan canlılar için de çok etkilidir ve onlara da büyük zararlar verir. Pestisitlerin kullanımı hedef alınmayan organizmaların doğal populasyonlarında istenmeyen düzensizliklere, tüm ekosistemde dengesizliğe, besin ağının değişimine ya da besin zincirinin kırılmasına yol açabilir (Dökmeci 1988).

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

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

(Öztürk 1990) (Şekil 2.1). Pestistlerin su kütlelerine karışmasının kaçınılmaz olmasından dolayı, bu kimyasallar diğer kirleticiler arasında, su ekosistemlerine giriş bakımından, birinci sırada yer almaktadır (Lee ve Jones 1998).

İnsanlara kadar ulaşan pestisitler (organoklorlu pestisitler gibi) ve metabolitleri; endokrin bozucu ve non-Hodgkin's lenfoma, lösemi, beyin kanseri, uterus kanseri, yumuşak-doku sarkoma, Hodgkin's hastalığı ve düşük sperm konsantrasyonu gibi birçok hastalık için potansiyel risk faktörüdür (Vural 1996). Dünya Sağlık Örgütü (WHO 1990) Dünya'da her yıl 20,000 insanın pestisit maruziyetine bağlı olarak ortaya çıkan hastalıklardan öldüğünü bildirmiştir.



Şekil 2.1. Pestisitlerin su ekosistemi besin zincirinde hareketi (EPA 2009)

Pestisitlerin insana kadar ulaşmasındaki en önemli yollardan biri de su ekosistemleridir. Suya karışan pestisitler ya kirlenmiş suyun doğrudan tüketilmesiyle yada suda yaşayan canlıların yenmesiyle insan metabolizmasına karışır. İnsanın çeşitli dokularında biriken bu kimyasallar zamanla çeşitli hastalıklara neden olur.

2.1.1. Pestisit Kullanımının Tarihçesi

1930'lu yıllara kadar daha çok bitkisel kaynaklı (*Nicotiana tobacum, Strychnosnux vomica* gibi) veya anorganik (bakır sülfat, kurşun arsenit, bakır arsenit gibi) maddeler, pestisit aktif maddesi olarak kullanılmıştır. 1930'lu yıllardan itibaren modern sentez kimyasındaki devrim ile birlikte alkil tiyosiyanat insektisitleri, ditiyokarbamat fungusitleri, etilen bromür, karbon sülfür fumiganları gibi çeşitli etken maddeler geliştirilmiştir. II. Dünya Savaşı başlarında ise çeşitli kimyasal maddeler (DDT, klorofenoksiasetik asit grubu maddeler gibi) deneysel olarak araştırılmaya başlanmıştır ve savaş sırasında bu aktiviteler sır olarak kalmıştır. Bu yıllarda pestisit üretiminde önemli gelişmeler olmuştur. Bir Alman firması tarafından organik fosforlu bileşiklerin böcek öldürücü etkisi ilgili bir çalışma yürütülürken sentetik insektisitler geliştirilmiştir. Bu çalışmalarda organofosfatlı (OPs) insektsitlerin insanlar gibi hedef olmayan organizmalardan çok böcekler üzerine toksik etkisi ortaya konulmuştur. Hegzoklorosiklohegzan gibi organoklorlu insektisitler ile organofosfatlıların üretimi hemen hemen aynı zamanda gerçekleştirilmiştir.

DDT (Diklorodifeniltrikloroetan) ise ilk olarak 1874 yılında sentezlenmiş olmasına rağmen 1939 yılına kadar insektisit özelliği keşfedilmemiştir. (Brooks 1974). 1942 yılında İtalya'da askeri birliklerdeki bir tifüs salgınında DDT kullanımı, salgını kısa sürede ortadan kaldırmıştır. Pestisitlerle ilgili ilk ciddi eleştiri biyolog Rachel Carson'un 1962 yılında yayımladığı "Silent Spring (Sessiz Bahar)" kitabıyla ortaya çıkmıştır. Bu kitap, DDT ve klorlu hirokarbonların çevredeki dayanıklılığını, insan ve hayvanların yağ dokularında birikimini, hedef olmayan veya olmaması gereken türler üzerindeki toksik etkisiyle, ekolojik ve insan sağlığıyla ilgili yıkıcı etkilerini dile getirmiştir. DDT'ye karşı olan gruplar sıtma eradikasyon programının uygulandığı bölgelerde DDT'nin etkili olmadığını, buna karşı hızla direnç geliştiğini belirlemişledir. Üstelik DDT'nin sivrisineklerle beslenen birçok hayvan türünün de ölümüne neden olduğu gösterilmiştir.

1960'lı yıllarda başlayan diğer bilimsel araştırmalarda DDT'nin farelerde karsinojenik olduğu belirlenmiş ve buna paralel olarak DDT, 1971 yılında ABD'de yasaklanmıştır. 1974-1984 yılları arasında İngiltere'de DDT'nin gönüllü olarak terk edilmesi yoluna gidilmiş, günümüzde tümüyle yasaklanmıştır. Bütün bunlar pestisitlerle

ilgili ikilemleri çok net bir şekilde ortaya koymaktadır. Bir yandan pestisitlerin sağladığı yararları diğer yandan zararları savunanlar kuşkusuz haklı birçok gerekçeye sahiptiler.

II. Dünya Savaşı'ndan sonra tarımsal ilaçlarda çok hızlı bir gelişme olmuştur. Bütün bu araştırma ve gelişmelerde en önemli hedef, pestisitin yok edilmesi istenen zararlıya karşı selektif (seçici) ve spesifik toksisite göstermesi ve diğer canlılar için minumum toksik etkiye sahip olmasıdır. Böylece ilk sentez edilen pestisit aktif maddelerinin *ikinci* ve *üçüncü jenerasyonları* olarak isimlendirilen daha güvenilir maddelerin sentezi yapılmıştır. Ancak her pestisitin bir dereceye kadar toksisitesi vardır ve sağlık açısından "tam güvenceli" bir pestisit yoktur. Bununla beraber, belirli koşullarda kullanıldıklarında riskleri azaltılabilir (Vural 1995, Güler ve Çobanoğlu 1997).

2.1.2. Pestisitlerin Sınıflandırılması

Pestisitler değişik özellikleri dikkate alınarak çeşitli şekillerde sınıflandırılabilirler:

I. Formülasyon şekillerine göre:
   1. Toz ilaçlar (DP)
   2. Islanabilir toz ilaçlar (WP)
   3. Suda Çözünen toz ilaçlar (SP)
   4. Kuru tohum ilaçları (DS)
   5. Solüsyonlar ve sulu çözeltiler
   6. Emülsiyon konsantre ilaçlar (EC)
   7. Akıcı konsantre ilaçlar (SC)
   8. Yağlar (GS)
   9. Tabletler (TB)
   10. Granüller (GR)
   11. Pelletler
   12. Aerosoller (AE)
   13. Zehirli yemler (RB)
   14. Süspansiyonlar (CS)
   15. Gübre karışımları
   16. Yağ konsantreleri ve yağ solüsyonları
   17. Çok düşük hacimli ilaçlamaya uygun sulandırılmadan kullanılan sıvı ilaç

formülasyonları

18. Gaz halinde olanlar (VP-GA)

II. Etkiledikleri zararlı gruplarına göre:
    1. İnsektisit (Böcek öldürücü)
    2. Akarisit (Akar ve Örümcek öldürücü)
    3. Nematisit (nematod öldürücü)
    4. Mollusisit (yumuşakça öldürücü)
    5. Rodentisit (kemirgen öldürücü)
    6. Avisit (Kuş öldürücü)
    7. Afisit (yaprak biti öldürücü)
    8. Fungusit (mantar öldürücü)
    9. Fungustatik (mantar faaliyetini durduran)
    10. Herbisit (zararlı otları öldürücü)
    11. Bakterisit (bakteri öldürücü)
    12. Algisit (alg öldürücü)
    13. Repellentler (kaçırıcılar)
    14. Atraktantlar (çekiciler)

III. Kullanma tekniğine göre:
    1. Doğrudan kullanılan ilaçlar
    2. Su veya organik çözücü ile seyreltilerek kullanılan ilaçlar

IV. Etkilediği Zaralının biyolojik dönemine göre:
    1. Larvisit (larva öldürücü)
    2. Ovisit (yumurta öldürücü)
    3. Ovalarvisit (hem yumurta hem de larva öldürücü)
    4. Maturisit (Erişkin öldürücü)

V. Zararlılara etki yollarına göre:
    1. Mide zehirleri
    2. Kontak zehirler
    3. Solunum zehirleri

VI. Toksik özelliklerine göre:
    1. Fiziksel zehirler
    2. Protoplazma zehirleri

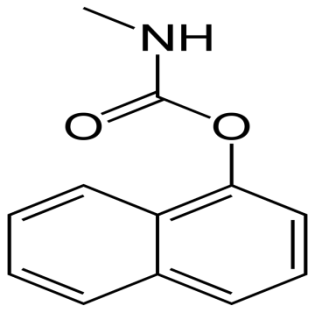
3. Sinir sistemi zehirleri
4. Solunum zehirleri
5. Antiguagulantlar

2.1.3. Çalışmada Kullanılan Pestisitler

2.1.3.1. Carbaryl

Carbaryl karbamat ailesinden bir insektisittir. Karbamatlar ev, bahçe ve tarımda oldukça yaygın kullanılan insektisitlerdir. Bu pestisitler yüksek etkiye ve çevrede az bir kalıcılığa sahiptirler, bu yüzden organoklorlular yerine sistemik ve kontak pestisitleri olarak sıklıkla tercih edilirler (Baron 1991, Ribera ve ark. 2001). Karbamat insektisitler asetilkolinesteraz (AChE) enziminin aktif bölgesini karbatlayarak (Watts ve Wilkinson 1977), bu enzimi geri dönüşümlü olarak inhibe ederler (Gruber ve Munn 1998, Mora ve ark., 2000). Karbamat pestistlerin yüzey akıntılarıyla akuatik sistemlere karıştığına (Beyers ve ark. 1995) ve hedef olmayan sucul canlılara aşırı derecede toksik olduğuna dair literatürde çok sayıda çalışma mevcuttur (Braman ve ark. 1997, Brewer ve Atchison. 1999, Weber ve Rosenberg 1984).

Carbaryl (1-naphthyl-N-methylcarbamate) narenciye, meyve, orman ağaçları, çim, fındık, süs bitkisi ve diğer zirai öneme sahip bitkiler için tehlike oluşturan 100 kadar zararlı böceğin kontrolünde kullanılan karbamat ailesine ait bir insektisittir (EPA 2004). Laboratuvar ortamlarında yapılan çalışmalarda bu kimyasalın doğada kalıcılığının kısa süreli olduğu gösterilmesine rağmen (Liu ve ark. 1981), yapılan bazı çalışmalarda belli koşullar altında bu pestisidin 1 yıl boyunca sucul ekosistemlerde kaldığı rapor edilmiştir (Gibbs ve ark., 1984).



Şekil 2.2. Carbaryl'in moleküler yapısı (Sandoza ve ark. 2000)

Carbaryl'in sucul canlılar üzerinde meydana getirdiği etkilere dair literatürde çalışmalar mevcuttur. Carbaryl'in *O. niloticus* için 96 saatlik LC50 değeri 8500 µg/L bulunmuştur (Liong ve ark. 1988). Bu değer Carbaryl'in *O. niloticus* için yüksek derecede toksik olduğunu göstermiştir (Kannan 1997). Yapılan bir diğer çalışmada, Carbaryl'in bir tatlı su balığı olan *Channa striatus*'un dişi üreme sisteminde hasara yol açtığı saptanmıştır (Kulreshtha ve Arora 1984). Aynı çalışmada, bu kimyasalın oositlerde deformasyonlara ve foliküler arteziye neden olduğu rapor edilmiştir. Carbaryl'in *Channa punctatus*'un üremeyi düzenleyici sisteminde dengesizliklere neden olduğu da rapor edilmiştir (Ghosh ve ark. 1990).

Pant ve arkadaşları (1996), Carbaryl'e maruz kalan ratlarda spermatozoa hareketliliğinde ve sayısında bir azalmanın meydana geldiğini bildirmişlerdir. Carbaryl'in karaciğerdeki oksidasyon sistemini bozduğuna dair çalışmalar da literatürde mevcuttur (Mattos ve ark. 2007). Arthropodların vertebratlara göre Carbaryl'e daha hassas olduğuna dair literatürde yapılan araştırmalar mevcuttur. Yapılan bir çalışmada bir tatlı su salyangozu olan *Pomacea patula* için Carbaryl'in 96 saat LC_{50} değeri 14.6 µg/ml olarak tespit edilmiştir (Mora ve ark. 2000). Peterson ve arkadaşları (2001), Carbaryl'in tatlı su makro-invertebratları için 96 saat LC_{50} değerinin 11.1 ve 61 µg/l aralığında olduğunu bildirmişlerdir.

Boran ve ark. (2010), yaptıkları bir çalışmada Carbaryl'in gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) solungaç, böbrek ve karaciğerinde meydana getirdiği histopatolojik etkileri incelemişlerdir. Yaptıkları bu çalışma sonunda Carbaryl'in sub-letal konsantrasyonlarının balığın solungaçlarında lamellar ödem, epitel ayrılması, lamellar füzyon, epitel hücrelerinde şişme ve epitel nekrozuna neden olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda, araştırmacılar, Carbaryl'in balıkların böbrek ve karaciğer dokularında şiddetli histopatolojik lezyonlar meydana getirdiğini göstermişlerdir.

Yapılan bir çalışmada Carbaryl'in bir tatlı su balığı *Carassius auratus*'un solungaçlarında meydana getirdiği histopatolojik değişiklikler TEM ve SEM ile incelenmiştir (Pfeiffer ve ark. 1997). Araştırmacılar yaptıkları bu çalışma sonunda 96 saat boyunca Carbaryl'in sub-letal dozuna maruz bıraktıkları balıkların solungaçlarında çok çeşitli hücresel patolojik değişikliklere rastlamışlardır. SEM ile yapılan incelemeler sonucunda canlıların solungaçlarında sekonder lamellerde füzyon, distorsiyon, incelme

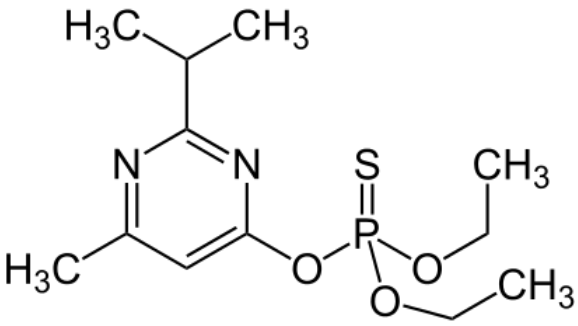
ve mukus salgılanması rapor edilmiştir. TEM sonuçları balıkların solungaçlarında, subepitel lemfatik alanın genişlemesini, mitokondriyal bozulmayı, lamelleri çevreleyen epitel tabakasının bozulmasını, pillar hücrelerinin bağlı bulundukları yüzeyden ayrılmalarını ve klorid hücrelerinde meydana gelen vakuolleşmeyi göstermiştir. Ancak bu çalışma balığın sadece solungaç dokusuyla sınırlı kalmış ve balıkların organ sisteminde meydana gelebilecek diğer sitopatolojik ve ultrasükrüktürel değişikliklere dair herhangi bir bilgi verilmemiştir. Carbaryl'in *O. niloticus* dokularında meydana getirdiği sitopatolojik ve ultrasükrüktürel değişikliklere dair elektron mikroskoplarıyla ilgili çalışmalara literatürde rastlanmamaktadır. Özellikle kültür koşullarında yetiştirilen ve önemli bir ticari değeri olan ve çalışmamızda model olarak kullandığımız *O. niloticus* için literatürde çok az makaleye rastlanmıştır. Hatta bu canlıların histolojik yapılarında meydana gelen ultrasükrüktürel değişimlere dair herhangi bir çalışma yoktur.

2.1.3.2. Diazinon

Çalışmamızda *O. niloticus* için histopatolojik etki değerlendirmesi yapılan ikinci pestisit bir organofosfat insektisit olan Diazinondur. Organofosfat grubu insektisitler, organik fosforlu (OP) bileşikler içlerinde bulunan bir veya daha fazla fosfor atomları nedeniyle OP'lu bileşikler grubu olarak adlandırılırlar.

OP'lu insektisitler, 1940'lı yılların ortalarından bu yana kullanılan insektisitler arasında en önemli ve yaygın sınıfı oluşturmaktadır (Gallo ve Lawryk 1991, Gültekin ve ark. 2001). Bu grup insektisitlerin organizmadaki birincil hedefi asetilkolin esterazlardır (AChE) (Rajdeep ve Sendhu 2008, Hazarika 2003). OP grubu insektisitler, AChE'ın geri dönüşümsüz inhibisyonu sonucu kolinerjik sinapslarda asetilkolin (ACh) birikmesine bağlı olarak muskarinik ve nikotinik reseptörlerin aşırı uyarılmasına neden olup sonuçta kolinerjik sendroma yol açarlar (Giordano ve ark. 2007). OP'lu insektisitler içinde en yaygın olarak kullanılanı diazionundur [O,O-diethyl-O-(2-isopropyl-6-methyl-pyrimidine-4- pyrimidinyl) phosphorothioate]. Diazinon'un moleküler formülü $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$'dir. Diazinon renksiz ve kokusuz bir madde olup, tarımda koyu kahverengi / yeşil sıvı formda kullanılmaktadır. Sudaki çözünürlüğü zayıftır. Kaynama noktası 83-84 ^oC olup, 120 ^oC'de bozulur. Diazinon nötr ortamda stabil, alkali ortamda ise yavaş hidrolize olur. Diazinon mikrozomal enzim sistemi ile okside olarak diazoxon, hidroksidiazoxon, hidroksiDiazinon'a dönüşür. Maruz kalındıktan sonra vücutta oksijen

analoğu olan diazoksine dönüşerek kolinesteraz inhibisyonu yapar (Gallo ve Lawryk 1991).



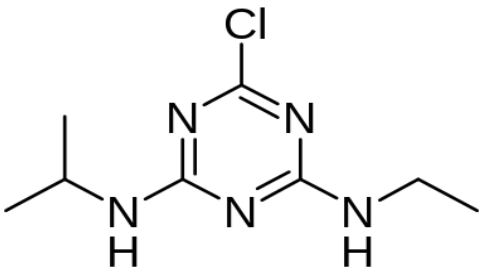
Şekil 2.3. Diazinon'un moleküler yapısı (Wikipedia 2015a)

El-Sherif ve ark. (2009) tarafından yapılan bir çalışmada Diazinon'un *O. niloticus* için LC_{50} değeri 2800 µg/L olarak bulunmuştur. Bu değere göre Diazinon *O.nilotucus* için oldukça toksiktir (Kannan 1997). Diazinon'un sucul canlılara özelliklere balıklara yüksek derecede toksik olduğu ve bu canlılarda çeşitli toksik etkiler meydana getirdiğine dair başka çalışmalar da bulunmaktadır**.** Keizer ve arkadaşları (1991), Diazinon'un 96 saatlik LC_{50} değerini *Poecilia reticulata* için 0.8 mg/l ve *Brachydanio rerio* için yaklaşık olarak 8 mg/l olarak rapor etmişlerdir. Bu çalışmalar bu kimyasalın balıklar için yüksek derecede toksik olduğunu göstermektedir (Kannan 1997). Aydın ve Köprücü (2005), yaptıkları bir çalışmada *Cyrinus carpio* embriyoları için Diazinon'un 48 saatlik LC_{50} değerini 0.999 mg/L olarak bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar *C.carpio* larvaları için ise 96 saatlik LC_{50} değerini 1.530 mg/l olarak kaydetmişlerdir. Dahası araştırmacılar, Diazinon'un artan konsantrasyonlarında, embriyoların yumurtadan çıkma yüzdelerinin azaldığını rapor etmişlerdir. Üner ve ark. (2006), yaptıkları bir çalışmada Diazinon'un, *Oreochromis niloticus'* un beyin dokusunda asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesinde meydana getirdiği değişiklikleri belirlemişlerdir. Bu çalışma sonucunda 30 gün boyunca 1 ve 2 mg/L konsantrasyonlara maruz bıraktıkları balıkların beyin dokusunda AChE aktivitesinin kontrol grubundakilere göre %93 azaldığını bildirmişlerdir. Ancak Diazinon'un balık dokularında meydana getirdiği sitopatolojik ve ultrasükrüktürel değişikliklere dair elektron mikroskoplarıyla ilgili çalışmalara literatürde rastlanmamaktadır.

2.1.3.3. Atrazin

Tarımsal savaşımda pestisitler entegre bir şekilde kullanılmaktadır. Yani bir tarım alanında sadece insektisitler değil farklı canlılara da etki eden pestisitler kullanılmaktadır. Bu pestisitlerin en başında herbisitler gelmektedir. Tarımsal üretimde yabancı otlarla mücadele etmenin en kolay ve etkili yolu herbisitleri kullanmaktır. Ülkemizde de bu kimyasallar yaygın olarak kullanılmaktadır. Kullanılan kimyasalların çoğu sentetik olduklarından uzun yıllar doğada parçalanmadan kalmakta ve toprakta biriktiği gibi topraktan suya geçerek yayılmaktadır. Bu durumda çevre kirlenmekte canlılara toksik etkileri ile zarar vermektedir (Topal 2011). Çalışmamızda sucul ekosistemlerde meydana gelebilecek bu etkileri belirlemek adına triazin bir herbisit olan Atrazin kullanılmıştır. Atrazin, 1950'li yıllardan itibaren üretilen tarımda ve ormancılıkta yaygın olarak kullanılan bir pestisitdir. Örneğin; çim alanlarda, geniş yapraklı yabani otların kontrolünde, bağlarda, meyve bahçelerinde, narenciye bahçelerinde, şeker kamışı bulunan alanlarda ve çayırlık alanlarda kullanılmaktadır. Dünya genelinde yıllık 70.000-90.000 tonluk kullanımıyla en çok kullanılan pestisittir.

Atrazin (6-chloro-N-ethyl-N′-(1-methylethyl)-1,3,5-triazine-2,4-diamine), triazin herbisitdir. Bu kimyasal, tersinir olarak fotosentezi inhibe ederek zararlı bitkilerin gelişimini durdurur. Bu herbisit oda sıcaklığında kristal yapıda sert ve beyaz bir kimyasaldır. Sudaki çözünürlüğü litrede 28 mg, erime sıcaklığı 176 ˚C ve buhar basıncı 0.04 mPa'dır (Kidd ve James 1991).



Şekil 2.4. Atrazin'in moleküler yapısı (Wikipedia 2015b)

Son yıllarda sucul alanlara ve yeraltı sularına sürekli Atrazin girişiyle ilgili endişeler artmaktadır. Atrazin dünyada yoğun bir şekilde kullanılmasına rağmen bu herbisidin sucul komüniteler ve ekosistemelere etkisine dair çok az çalışma yapılmıştır.

Yapılan az sayıdaki çalışmalardan birinde, Christopher ve Bird (1992), Chesapeake körfezindeki balıkların sayısında meydana gelen azalmanın su altı bitkilerinin azalmasından ötürü meydana geldiğini bildirmişlerdir. Su bitkilerinde meydana gelen bu azalmanın ise sedimentte yüksek miktarda tesbit ettikleri Atrazin seviyesinden kaynaklandığını rapor etmişlerdir.

Atrazin ürünlere uygulandıktan sonra topraktaki yüksek hareketliliğinden dolayı su kaynaklarına karışabilir (Waring ve Moore 2004). Hussein ve arkadaşları (1996), Atrazin'in sucul ekosistemlere ulaşmasının su kaynaklarının tarım arazilerine olan yakınlığı ya da tarım çevrelerinde dikkatsiz uygulamalar nedeniyle olduğunu bildirmişlerdir. WHO raporuna göre (1996) Atrazin yüzey suyunda fotoliz ve mikroorganizmalar tarafından degrade edilebilir. Atrazin'in *O. niloticus* için 96 saatlik LC_{50} değeri 9,35 mg/L olarak rapor edilmiştir (Hussein ve ark. 1996). Atrazin'in sucul canlılarda meydana getirdiği toksik etkilere dair başka çalışmalar da mevcuttur. Ramesh ve arkadaşları (2009) tarafından yapılan bir çalışmada Atrazin'in *C. carpio* için 24 saatlik LC_{50} değeri 18.5 mg/L olarak rapor edilmiştir. Aynı araştırmacılar, Atrazin'in balıkların kan parametlerinde biyokimyasal ve hematolojik değişiklikler meydana getirdiğini kaydetmişlerdir. Yapılan çalışmalar, Atrazin'e maruz kalan su canlılarında davranış bozukluklarının meydana geldiğini göstermiştir (Ramesh ve ark. 2009). Antychowicz ve arkadaşları (1979), meydana gelen davranış bozukluklarının merkezi sinir istemi ve kardiyo vasküler sistemde Atrazin'in meydana getirdiği toksik etkiyi gösterdiğini bildirmişlerdir. Atlantik somonları üzerinde yapılan bir çalışmada, 100 g/l Atrazin'e maruz bırakılan canlılarda 10-15 gün sonra yemek tüketiminde azalma meydana geldiği rapor edilmiştir (Puigdoller ve ark. 2007). Hussein ve arkadaşları (1996) Atrazin'in Atlantik somonlarında meydana getirdiği bu davranış bozukluklarının asetilkolinesteraz aktivitesideki azalmadan kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. Taylor ve arkadaşları (1991) tarafından yapılan bir çalışmada ise 4 kimyasalın (lindan, bakır, DCA ve Atrazin) *Gammarus pulex* üzerinde toksisitesini incelemişler ve bu kimyasallar arasında bu canlı üzerinde en az toksisiteye sahip olanın Atrazin olduğunu bildirmişlerdir. Xing ve ark., (2012) yaptıkları bir çalışmada 40 gün boyunca sazan balıklarını (*C. carpio*) Atrazin'in belli konsantrasyonlarına maruz bırakmışlar ve bu süreç sonunda maruz bırakılan balıkların beyin dokusunda bulunan antioksidan enzimlerin (SOD, CAT ve GSH-Px) aktivitelerinde önemli düşüşler olduğunu kaydetmişlerdir. Özellikle beyin dokusunda

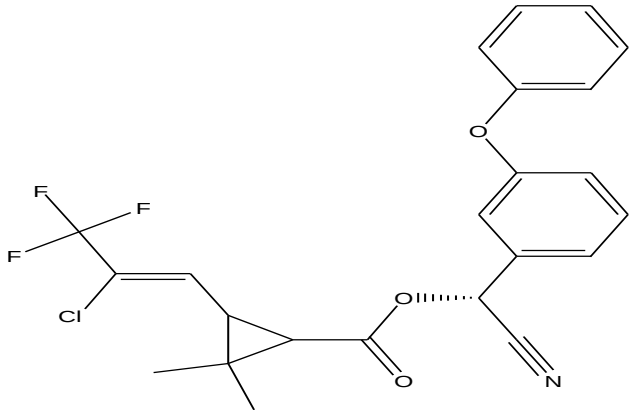
meydana gelen patolojik değişikliklerin şiddetinin Atrazin'in artan konsantrasyonlarına paralel olarak değiştiğini bildirmişlerdir. Atrazin'in balık dokularında meydana getirdiği sitopatolojik ve ultrasükrüktürel değişikliklere dair elektron mikroskoplarıyla ilgili çalışmalara literatürde rastlanmamaktadır.

2.1.3.4. Lambda-cyhalothrin

Son olarak çalışmamızda etkisini değerlendirdiğimiz diğer bir pestisit piretroid ailesinden bir insektisit olan Lambda-cyhalothrindir. Piretroid pestisitler, güçlü insektisit özelliklerinden ve çoğu hedef alınmayan hayvanlara özelikle memelilere non toksik olmalarından dolayı organoklorlu ve organofosfatlı pestisitlere göre daha tercih edilen bir şekilde kullanılmaktadır. Piretroidler kolay bir şekilde metabolize edilmelerinden dolayı çoğu hayvanda oldukça kısa bir ömre sahiptir. Sularda pestisitlerin ağır kontaminasyonları oksijen kıtlığı dolayısıyla zehirlenmelere öncülük eder ve balıkların kitlesel ölümlere yol açar (David ve Somasundram 1985, Venkatramesh ve Agnihothrudu 1988, Brandbury ve Coats 1989). *Chrysanthemum cinerariaefolium* bitkisinden elde edilen piretroidler, özellikle pamuk ve diğer bitki zararlılarına ve insanlarda ektoparazitlere karşı yaygın olarak kullanılmaktadır (Dökmeci 1988).

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

Sentetik bir insektisit ve akarisit olan Lambda-cyhalothrin (ʌ-cyano-3-phenoxybenzyl-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enyl) -2,2-dimethyl cyclopropane carboxylate) 1977 yılında geliştirilmiş ve Tip-II bir piretroid olarak sınıflandırılmıştır. Lamda-cyhalothrin oldukça lipofilik bir insektisittir; bu yüzden dokularda birikimi oldukça fazladır. Bu kimyasalın toksik etkileriyle ilgili çalışmalar balık ve memelilerde oldukça fazladır.



Şekil 2.5. Lambda-cyhalothrin'in moleküler yapısı

Lambda-cyhalothrin ve diğer pretiroid pestisitler balıklara yüksek derecede toksiktir. Yapılan bir çalışmada, Piner ve Üner (2012), lamda-cyhalothrinin *O. niloticus* için LC_{50} değerini 2,901 µg/L olarak rapor etmişlerdir. Bu değer bu kimyasalın *O. niloticus* için şiddetli derecede toksik olduğunu göstermektedir (Kannan, 1997). Bu gruptaki pestisitlerin balıklarda meydana getirdiği toksik etkilere karşı literatürde başka veriler de bulunmaktadır. Velmurugan ve ark. (2007), yaptıkları bir çalışmada bir tatlı su balığı olan *Cirrhinus mrigala*' ya 3 ppb ve 6 ppb konsantrasyonlarında Lambda-cyhalothrin vermişler ve bu çalışmanın sonucunda bu canlıların solungaç dokularında epitel hiperplazisi, anevrizma, epitel nekrozu, epitel ayrılması ve ödem, sekonder lamellerin birleşmesi ve sekonder lamellarin kısalması gibi histopatolojik değişikler tesbit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar Lambda-cyhalothrin uygulamasından sonra bu canlının böbreklerinde tübüler lamel de daralma, renal tüp epitel hücrelerinde hidrofik dejenerasyon, tübüler epiteyum da nekroz, glomeruluslarda daralma ve Bowman kapsülünün içindeki boşlukta genişleme bildirmişlerdir. Ayrıca çalışmada araştırmacılar aynı konsantrasyonları uyguladıkları *C. mrigala* bireylerinin karaciğerinde karyolizis, karyoheksiz, bulutlu dejenerasyon, tıkanıklık, sinuzoidlerde genişleme, hepatositlerde hipertrofi ve fokal nekrozlara rastlamışlardır. Lambda-cyhalothrin'in balık dokularında meydana getirdiği sitopatolojik ve ultrasükrüktürel değişikliklere dair elektron mikroskoplarıyla ilgili çalışmalara literatürde rastlanmamaktadır.

2.2. Deneysel Bir Model Olarak *Orechromis niloticus* (Linnaeus, 1758)

Balıklar, sucul kirlenmenin etkilerinin belirlenmesinde iyi birer indikatördürler, çünkü toksikolojik kirlenmeye karşı verdikleri yanıt memelilerin verdikleri yanıta oldukça benzer (Mishra ve Shukla 2003). Bu organizmalar, bu sebepten dolayı sucul ekosistemlerin sağlığını ve kirletici yüzünden meydana gelmiş toksikolojik patolojiyi belirlemek için dünya genelinde sıklıkla kullanılan deneysel modellerdir (Garcia-Santos ve ark. 2006). Balıklar besin ağında önemli rol oynadığı, toksik bileşikleri biriktirdiği ve düşük dozda bile mutajenlere cevap verdiği için deneysel çalışmalarda ilkin tercih edilen canlılardır (Çavaş ve Ergene-Gözükara 2005). Bu yüzden, deneysel çalışmalarda balık biyobelirteçlerinin kullanılması, bir kirlenmenin etkilerini belirlemek için artan bir değere sahiptir ve sucul çevre sorunlarının erkenden belirlenmesine olanak sağlamaktadır (Lopez-Barea 1996, Van der Oost ve ark. 2003).

Oreochromis niloticus (Linnaeus, 1758) kültür koşullarında bakım ve beslenmeye uygun olmaları, üremelerinin kolay olması, kirlenme ve çeşitli hastalıklara karşı dirençli olmaları yüzünden iyi biyolojik model olarak tanınan balıkların en önemli gruplarından birine aittir. Son yıllarda *O. niloticus* akuatik çevredeki kirleticilerin biyolojik etkilerini incelemek için indikatör organizmalar olarak kullanılmaktadır (Almedia 2002). Cichlidae familyası ve Oreochromis cinsine ait olan *O. niloticus*, tropikal bölgelerde 14-33°C sıcaklıkta ve genellikle Nil Nehri'nde yaşayabilen bir balık türüdür. Maksimum boy 60 cm, maksimum ağırlık 4.324 kg olabilir. Kanalizasyon suyu, sulama suyu, göl, nehir gibi tatlı su habitatlarının geniş çeşitliliğinde ortaya çıkar. Çoğunlukla gündüz hareketlidirler. Besinleri genelde fitoplankton ve bentik alglerdir ve ovipardırlar. Ağız kuluçkası dişi tarafından yapılır (Fishbase 2015). Bu çalışmada kullanılan *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)' un taksonomisi aşağıdaki gibidir:

- **Phylum:** Omurgalılar
  - **Classis:** Actinopterygii
    - **Ordo:** Perciformes
      - **Familia:**: Cichlidae
        - **Genus:** Oreochromis
          - *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)



Şekil 2.6. *Oreochromis niloticus* (Kan 2011)

Balık biyobelirteçleri, risk belirleme sürecinin etki, maruziyet ve tehlike değerlendirmeleri, risk sınıflandırması ya da sucul ekosistemlerin çevresel kalitesinin izlenmesi ve sınıflandırması gibi bazı basamakları için kullanışlı bir araç olabilir (Depledge ve Fossi 1994). Birçok sebepten dolayı balık türleri çevresel kirleticilere karşı oluşturulan biyolojik ve biyokimyasal yanıtların belirlenmesi çalışmalarında araştırmacıların ilgisini çekmektedir (Powers 1989). Balıklar bir sucul çevrede her yerde bulunabilir ve enerjiyi alt trofik seviyeden üst trofik seviyeye taşıma özelliklerinden dolayı sucul besin ağında önemli bir ekolojik role sahiptirler (Beyer 1996). Bu özelliklerinden dolayı balıklar, sucul sistemlerde kirlilik belirlemesi için en kullanışlı canlılar olarak görülmektedir (Velmurugan 2011).

2.3. Biyobelirteç Olarak Histolojik ve Ultrasütrüktürel İnceleme

Bir ekosistemde yalnızca kimyasal birikimin izlenmesi, bu kimyasalın organizma, populasyon ve komuniteler üzerindeki etkilerinin değerlenmesinde yeterli değildir (Velmurugan 2011). Bir kimyasalın sub-letal seviyeleri açısından, organizmanın kontaminasyona karşı oluşturduğu yanıt; insanlarda tıbbi tanılarda kullanıldığı veya veteriner klinik toksikolojide olduğu gibi; sadece biyolojik, fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerin ölçülmesiyle değerlendirilebilir (Lagadic ve ark. 2000). Bu tür senaryolar çevresel antropojenik toksinlere karşı organizmada oluşan olumsuz biyolojik yanıtları gösteren erken uyarı sinyallerini, yani biyobelirteçleri, ortaya koymak için yapılan araştırmaları tetiklemelidir (Bucheli ve Fent 1995).

Biyobelirteçler, bir organizmanın herhangi bir toksine gösterdiği yanıttan kaynaklanan ve organizmanın durumundaki değişimi yansıtan biyolojik parametrelerdir (Chambers ve ark. 2002). Aynı zamanda bir biyobelirteç, maruziyet veya çevresel kimyasalların toksik etkileri sonucu oluşan biyolojik yanıtlarda meydana gelen değişimler olarak da ifade edilebilir (Peakall 1994). Bu biyolojik yanıtlar genellikle, bir toksine kovalent bağlandığı için ya da bir parametrenin seviyesinde değişiklik yapması ile toksin maruziyetine hassaslaşmış biyokimyasal, fizyolojik veya histolojik ölçümleri kapsar (Velmurugan 2011). Bireylerde ölçülen biyobelirteçlere göre yapılan ekotoksikolojik yaklaşım canlı populasyonları etkilenmeden önce biyolojik organizasyonun alt seviyelerinde meydana gelen değişimlerin belirlenmesini sağlar.

2.3.1. Biyobelirteçlerin Sınıflandırılması

Ulusal Araştırma Konseyi (NRC 1987) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO 1992)'ne göre biyobelirteçler üç gruba ayrılmıştır:

a. **Maruziyet biyobelirteçleri:** Bu biyobelirteçler bir organizmanın ya da bir populasyonun bir toksine veya bir stresöre maruz kaldığının göstergesidir (Chambers ve ark. 2002). Maruziyet biyobelirteçleri, dışsal bir bileşiğin ya da bu bileşiğin metaboliti veya ürününün bir ksenobiyotik ajan ile bazı moleküller, hücreler arasındaki etkileşiminin ölçümünü ve belirlenmesini kapsar.
b. **Etki biyobelirteçleri:** Etki biyobelirteçleri toksinin etki mekanizması ile ilgilidir ve biyobelirteç modifikasyonunun dercesi ile olumsuz etkinin derecesini ilişkilendirmek için kullanılır (van der Oost ve ark. 2003). Bu biyobelirteçler, olası bir sağlık sorunu veya hastalığı olan bir organizmanın dokularında ya da vücut sıvılarında meydana gelen ölçülebilir biyokimyasal, fizyolojik veya histolojik birçok değişikliği içerir.
c. **Duyarlılık biyobelirteçleri:** Duyarlılık biyobelirteçleri bir bireyin belirli bir hastalığı geliştirmesine olan yatkınlığını tahmin etmek için kullanılır (Chambers ve ark. 2002). Bu biyobelirteçler, bir organizmanın spesifik bir ksenobiyotiğin maruziyetine karşı oluşturduğu doğal yada sonradan kazanılmış yanıt becerisini ve maruziyete duyarlılığını etkileyen reseptörlerindeki değişimleri göstermektedir (Velmurugan 2011).

2.3.2. Biyobelirteç Olarak Histolojik İnceleme

Histolojik inceleme; kirleticilere maruz kalmanın bir indikatörü olarak, özellikle subletal ve kronik etkiler için kirlilik derecesini değerlendirmede yararlı bir yöntemdir (Bernet ve ark. 1999) çünkü pestisitlerin eser seviyeleri, verilen bir peryotta hayvanın ölümüne neden olmaz, fakat bu seviyeler, organlarda önemli zararlar meydana getirme etkisinde olabilirler (Kumar ve Pant 1984). Kirleticilere maruz kalmadan dolayı en büyük yapısal zararlar hedef organlarda olabilir. Histolojik yapı değişebilir ve fizyolojik stres meydana gelebilir. Bu stres metabolik fonksiyonlarda bazı değişikliklere sebep olabilir. Fonksiyonlardaki değişiklikler hücresel seviye ve dokulardaki değişikliklerle başlatılır. Su ekosistemlerinde meydana gelen bir kirlenmeyi belirlemek için örnek canlılarda yapılacak histolojik incelemeler, o ekosistemin sağlığı açısından bize yararlı bilgiler sunabilir. Canlılarda bir toksin maruziyetinden kaynaklanan histolojik değişiklikler hem laboratuvar (Wester ve Canton 1991, Thophon ve ark. 2003) hem de alan çalışmalarında sıklıkla biyobelirteç olarak kullanılırlar. Çevresel izleme çalışmalarında histolojik biyobelirteçlerin kullanılmasının en önemli avantajı, hayati işlevlerden sorumlu solungaç, böbrek ve karaciğer gibi spesifik balık hedef organlarının incelenmesine olanak sağlamasıdır (Gernhofer ve ark. 2001).

Histopatolojik ve ultrasükrüktürel etkiler de dahil olmak üzere hücresel biyobelirteçler, canlının iç kimyasında meydana gelen biyokimyasal etkiler ile bireysel yada populasyonda meydana gelen yanıtlar arasında önemli bir bağlantı sağlamaktadır. Bu tür yanıtlar tipik olarak davranış değişikliklerinden önce meydana gelirler ve büyüme ya da üreme parametrelerinden daha hassastırlar. Ayrıca bütünleştirici parametreler olarak, bir canlının sağlık durumu hakkında, tek bir biyokimyasal yanıtın değerlendirilmesinden daha fazla bilgi verirler (Segner ve Braunbeck 1998). Histopatolojik araştırmaların laboratuvar çalışmalarında kimyasal bileşiklerin balıkların hedef organlarında meydana gelen direk etkilerinin belirlenmesinde kullanışlı bir araç olduğu kanıtlanmıştır (Schwaiger ve ark. 1997). Kirleticilere maruz kalmış balıkların üzerinde yapılmış olan birçok histopatolojik çalışma, bu biyobelirteçlerin su kalitesinin belirlenmesinde etkili bir indikatör olduğunu göstermiştir (Cardoso ve ark. 1996, Barlas 1999, Cengiz ve ark. 2001). Al-Mamoori ve ark. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada organofosfat bir insektisit olan chlorfosun 0.5, 0.1 ve 0.25 mg/L konsantrasyonlarına maruz bırakılan *Cyprinus carpio* bireylerinin solungaç ve karaciğer dokularında meydana

gelen histopatolojik değişiklikler incelenmiştir. Araştırmacılar maruz bırakılan balıkların solungaçlarında histolojik biyobelirteçler olarak kısmi lamel deformasyonu, anormal lamel yapısı, epitel hücrelerinde hiperplazi ve belirgin solungaç deformasyonu gibi birçok değişiklik rapor etmişlerdir. Aynı araştırmacılar bu canlıların karaciğer dokusunda lenfositlerin lokal infilrasyonu, hepatosit dejenerasyonu, sinüzoidlerde büyüme ve belirgin nekroz kaydetmişlerdir. Bu çalışma sonucunda, sucul canlıların dokularında meydana gelen histopatolojik değişikliklerin pestisit etkilerinin belirlenmesinde iyi birer biyobelirteç olduğu bildirilmiştir.

Yapılan bir diğer çalışmada araştırmacılar, Brezilya'da bulunan bir gölde Centropomus ve Sardinella balık türlerine ait bireylerde su kalitesini belirlemek amacı ile histolojik ve mikrobiyal parametreleri değerlendirmişlerdir (Santos ve ark. 2014). Çalışma sonucunda araştırmacılar balık türlerinin solungaçlarında mikrobiyal kontaminasyona bağlı olarak sekonder lamellerde ayrılma, lameller epitelinde hiperplazi, sekonder lamellerde füzyon, kan damarlarında bozulma, anevrizma, sekonder lamellerde hipertropi ve hemoraj kaydetmişlerdir. Çalışmada histopatolojik lezyonların mikrobiyal kontaminasyonun değerlendirilmesinde uygun birer biyobelirteç olduğu belirtilmiştir. Nascimento ve ark. (2012), balık solungaçlarında meydana gelen epitel ayrılması, ödem, lökosit infiltrasyonu, epitel hücrelerinde hiperplazi, sekonder lamellerde füzyon, anevrizma ve nekrozun sık karşılaşılan biyobelirteçler olduğunu bildirmişlerdir. Silva ve Martinez (2007) ise yürüttükleri bir çalışmada, balıklar üzerinde yapılan toksikolojik deneylerde böbrek dokusunun histopatolojik biyobelirteçlerinin kullanılmasının sucul çevrenin kalitesinin belirlenmesinde genel ve iyi bir indikatör olduğunu belirtmişlerdir.

Yapılan bir diğer çalışmada araştırmacılar *Oncorhynchus mykiss* bireylerini 28 gün boyunca 0.1 ve 0.2 mg/L subletal Diazinon konsantrasyonlarına maruz bırakmışlar ve bu kimyasalın *O. mykiss* bireylerinin solungaç, böbrek, dalak ve bağırsak dokularında meydana getirdiği etkileri ışık mikroskobu ile incelemişlerdir (Banaee ve ark. 2013). Çalışmanın sonunda solungaç dokularında epitel hiperplazisi, epitelyal flamentlerde nekroz, sekonder lamellerde füzyon ve ödem rapor edilmiştir. Böbrek dokularında ise glomerular lezyonlar, glomeruluslarda büzülme ve buna bağlı olarak Bowman kapsülü içindeki boşlukta genişleme, tübüler lümende atrofi, renal tübüllerde nekroz kaydedilmiştir. Dalak dokusunun melanomakrofaj bölgelerinde hemosiderin birikiminde artış belirlenmiştir.

Sucul ekosistemlerde kimyasal izleme çalışmaları kirlemenin derecesinin ölçülmesinde kullanışlıdır ancak balıklar dahil canlıların birçok organında meydana gelen kirlenmenin belirlenmesi ve değerlendirilmesi için biyobelirteç yanıtlarının kullanılması daha uygundur (Reddy ve Rawat 2013). Fakat birçok biyobelirteç, histolojik biyobelirteçlerin aksine, kirleticilerin etkisinin değerlendirilmesinde kısıtlı kalmaktadır (Moore ve Myers 1994). Aynı zamanda histolojik biyobelirteçler kısa ve uzun süreli toksik etkilerin belirlenmesinde en kolay yöntemdir (Hinton 1995). Yapılan çalışmalar histolojik biyobelirteçlerin bir kirleticinin etkilerinin belirlenmesinde kullanışlı ve etkili olduklarını göstermektedir.

Endüstriyel, zirai ve evsel atıkların çevreye bırakılması sucul sistemlerde kirlenmeye neden olmaktadır. Balıklar, özellikle atık suların yeterince temizlenmediği bölgelerde, yüksek miktarda kirleticiye maruz kalmaktadırlar. Bu durum kirleticiler;

a) yeterince parçalanabilir olmadığında,

b) yüksek bir biyolojik etkiye sahip olduğunda,

c) yüksek birikim kapasitesine sahip olduğunda,

d) çoklu kirlenmelerde birbirleri ile sinerjistik etki gösterdiğinde, özellikle balıklar için oldukça tehlikeli sonuçlar yaratabilmektedir (Bernet ve ark. 1999).

Sucul ekosistemlerin kirlenmesi, balıklarda tek bir hücrede meydana gelen biyokimyasal değişikliklerden tüm popülasyonda meydana gelen değişimlere kadar çok çeşitli etki göstermektedir. Bu bağlamda sucul ekosistemlerin korunması bu ortamlarda yaşayan canlılar için büyük önem arz etmektedir.

1990'lı yıllardan beri biyobelirteç kavramı artan bir sıklıkta kullanılmaktadır (McCarthy ve Shugart 1990, Huggett ve ark. 1992, Myers ve ark. 1994). Huggett ve ark. (1992)'e göre biyobelirteç terimi sub-organizmal ya da organizmal seviyede ksenobiyotik kimyasalların etkisinin ya da direkt maruziyetinin biyokimyasal, fizyolojik veya histolojik indikatörü olarak tanımlanmaktadır.

Yapılan birçok çalışmada, kirletici maruziyeti sonucu balıklarda meydana gelen lezyon yanıtları sınıflandırılmıştır. Bernet ve ark. (1999), meydana gelen lezyon yanıtlarını 5 gruba ayırmıştır:

1. **Reaksiyon paterni 1 (rp1): Dolaşım bozuklukları:** Bu tür bozukluklar kan veya doku sıvısında meydana gelen patolojik süreçler sonucu oluşurlar. Bu reaksiyon paterni grubunda şu değişiklikler yer almaktadır;

   -Hemoraj/Hiperemi/Anevrizma: Kanın damarlar dışına sızması (hemoraj), organların venlerinde ve arterinlerde kanın pıhtılaşarak damarı tıkaması (hiperemi), arteriyal kan damarlarının belirgin bir şekilde genişlemesi (anevrizma).

   -İnterselüler Ödem: Durgun doku sıvısının kılcal damarlardan dokunun içine sızması.

2. **Reaksiyon Paterni 2 (rp2): Regresif değişiklikler:** Regresif değişiklikler bir organın fonksiyonunun azalması ya da tamamen ortadan kalkması durumunu anlatmaktadır. Bu tür değişiklikler atrofi, dejenerasyon ya da nekroz gibi patolojileri kapsamaktadır. Genel olarak bu tür değişiklikler şu şekilde sınıflandırılmaktadır:

   -Mimari ve Yapısal Değişiklikler: Hücrelerin şeklinde ve düzenlenmesinde meydana gelen değişimlerden kaynaklanan, dokunun yapısının bozulması durumu.

   -Plazma Değişiklikleri: Hiyalin damlacıkları (granular dejenerasyon), dejeneratif yağ vakuolizasyonu ya da hidrofik glikojen damlacıkları (glikojen dejenerasyonu), kalkerli dejenerasyon ve bağ dokusu ince liflerinin kalınlaşması sonucu meydana gelen hücresel plazma değişimleri.

   -Depozitler: Özellikle dejeneratif süreçler sonucu oluşan maddelerin hücre içinde birikmesi.

   -Nükleer Değişiklikler: Hücre çekirdeğinin şeklinin değişmesi ve kromatin yapısının bozulması.

   -Atrofi: Hücrelerin sayılarının ve hacimlerinin ya da hücre içi madde miktarının azalması.

   -Nekroz: Hücre fonksiyonunun tamamen ortadan kalkmasından sonra meydana gelen hücrenin ya da dokunun morfolojik durumu.

3. **Reaksiyon Paterni 3 (rp3): Progresif Değişiklikler:** Bu tür değişiklikler hücrelerin veya dokuların aşırı çalışması sonucu meydana gelen değişimlerdir. Tipik lezyonları şunlardır:

-***Hipertrofi:*** Hücre sayısında herhangi bir artış olmadan hücrenin ya da dokunun hacimsel olarak büyümesi.

-***Hiperplazi:*** Hücre hacminde herhangi bir değişiklik olmadan hücre sayısında meydana gelen artıştan kaynaklanan, dokunun ya da organın genişlemesi.

4. **Reaksiyon Paterni 4 (rp4): Yangı (İnflamasyon):** İnflamator değişiklikler genellikle diğer reaksiyon paternleri ile ilişkili olarak ortaya çıkarlar (ödem gibi). Bu yüzden, bu tür değişimleri tek bir reaksiyon paterni grubuna bağlamak oldukça zordur. Ancak Bernet ve ark. (1999) bu tür değişimleri ayrı bir grup olarak ele almıştır ve sınıflandırmıştır. Bu sınıflamaya göre aşağıdaki değişimleri bu patern altında toplamışlardır:

   -***Eksudat:*** Lenf ve kan damarlarından sızan ve yüksek miktarda protein ve hücre artığı içeren sıvı.

   -***Retiküloendotelyal Sistemin Aktivasyonu:*** Kılcal damarların sınırlarını oluşturan endotelyal hücrelerden ve makrofajlardan oluşan retiküloendotelyal sistemde meydana gelen hipertrofi.

   -***İnfiltrasyon:*** Lökositlerin damarlardan sızarak doku içine geçmesi.

5. **Reaksiyon Paterni 5 (rp5): Tümör (Neoplazma):** Tümörler kontrolsüz hücre ve doku proliferasyonu olarak tanımlanmaktadır. Tümörler iki sınıfa ayrılmıştır:

   -***Benign Tümörler:*** Bu tümörler ana dokunun içinde ya da dışında meydana gelen farklılaşmış hücrelerden oluşmuştur. Bu yapılar normal dokuya oldukça benzerlik göstermektedir.

   -***Malignant Tümörler:*** Bu tümörler çok az ya da hiç farklılaşmamış, hızlıca ve kontrolsüz olarak bölünebilen, dokuyu ya da organı işgal ederek yok eden hücrelerden meydana gelmiştir. Metastaz görülebilir.

2.3.3. Biyobelirteç Olarak Ultrasükrüktürel İnceleme

Omurgalı ve omurgasız canlıların farklı organlarında meydana gelen ultrasükrüktürel yanıtlar, canlının sağlık durumunun belirlenmesinde kullanışlı bir araçtır (Storch 1988, Braunbeck ve Storch 1989). Geçmişten günümüze kadar, solungaç ve karaciğerin histopatolojisi ya da ultrasükrüktürel incelemeleri çevresel risk değerlendirmede biyobelirteç olarak kullanılmaktadır. Canlıların dokularında meydana

gelen ultrasükrüktürel değişimler biyokimyasal yanıtlar ile karşılaştırıldığında daha geç meydana gelirler ve bu sayede kirleticilerin daha uzun bir peryotta canlılarda oluşturduğu fonksiyonel etkileri gösterirler (Velmurugan 2011). Ultrasükrüktürel analizler kirlenmiş sucul ekosistemlerde bulunan balıklar da dâhil tüm canlıların sağlık durumlarının erken göstergeleri olan mitokondri, endoplazmik retikulum (ER) ve peroksizomlar gibi organellerinde meydana gelen patolojik değişiklikler ile ilgili ayrıntılı ve önemli bilgiler vermektedir (Grund ve ark. 2010). Canlılarda meydana gelen ultrasükrüktürel ve sitopatolojik yanıtlar çevresel kirlenmeyi belirlemek için kullanışlı olan kimyasalların çevresel etkilerini belirlemek için yeterince hassastırlar. Histopatolojik ve ultrasükrüktürel etkiler de dahil olmak üzere hücresel biyobelirteçler, canlının iç kimyasında meydana gelen biyokimyasal etkiler ile bireysel yada popülasyonda meydana gelen etkiler arasında önemli bir bağlantı sağlamaktadır. Bu tür yanıtlar tipik olarak davranış değişikliklerinden önce meydana gelirler ve büyüme ya da üreme parametrelerinden daha hassastırlar. Ayrıca bir canlının sağlık durumu hakkında bütünleştirici parametreler olarak tek bir biyokimyasal yanıtın değerlendirilmesine göre daha fazla bilgi verirler (Triebskorn ve ark. 1997, Segner ve Braunback 1998). Ultrasükrüktürel düzeyde yapılan çalışmalar, canlıların hücrelerinde meydana gelen toksik etkinin ve kimyasalların hücre içindeki etki bölgeleri hakkında daha detaylı bilgi sağlamaktadır (Triebskorn ve ark. 2004).

Kimyasalların meydana getirdikleri ultrasükrüktürel etkiler, literatürde genellikle şu kriterlere göre sınıflandırılmaktadır:

a. Hücre organellerinin genel esnekliği (Ghadially 1988, Triebskorn ve Kohler 1992).
b. Strese maruz kalan balıkların organlarında meydana gelen sitopatolojik semptomlar (Mallat 1985, Ficher-Scherl ve ark. 1991, Oulmi ve ark. 1995).

Yapılan birçok çalışmada balık solungaç hücrelerinde meydana gelen sitopatolojik değişikliklerin ksenobiyotik etkilerinin belirlenmesinde hassas birer araç olduğu gösterilmiştir (Mallat 1985, Pawert ve ark. 1998). Balıkların solungaç, karaciğer, böbrek ve bağırsaklarında meydana gelen sitopatolojik değişiklikler yapılan birçok çalışmada tanımlanmıştır (Triebskorn ve ark. 2004). Solungaçlarda meydana gelen kimyasal kaynaklı lezyonlar, literatürde daha çok ışık mikroskopu ile incelenmiş

olmasına rağmen son yıllarda elektron mikroskopları da bu tip çalışmalarda kullanılmaya başlanmıştır (Crespo 1982, Pereira 1988, Kirk ve Lewis 1993). Bu çalışmalar, elektron mikroskoplarının farklı kirleticilerin canlı dokusunda meydana getirdiği spesifik hasarların tanımlanmasında önemli katkıları olduğunu göstermiştir. Kimyasal analizler, çoğu zaman kirleticinin canlı vücudundan atılmasından ya da uçucu olmalarından dolayı tespit edilememektedir (Alazemi ve ark. 1996).

Elektron mikroskobik araştırmalar; analitik veya kimyasal metotlarla belirlenemeyen çok düşük konsantrasyonlardaki kirleticilerin ve bilinmeyen bir olay sebebiyle günler ya da haftalar sonra ortaya çıkan kötü su kalitesi durumlarından kaynaklanan metabolik bozulmaların teşhisinde etkili bir şekilde kullanılmaktadır (Braunbeck 1998). Ultrasüktürel yanıtlar; çevresel kirlenmeyi belirlemek için kullanışlı olan kimyasalların düşük konsantrasyonlarının canlılar üzerindeki erken etkilerini göstermek için yeterince hassastırlar (Pawert ve ark. 1998).

Günümüzde canlı dokusunda meydana gelen histopatolojik değişiklikleri belirlemek için birçok yöntem kullanılmaktadır. Ancak görüntüleme sistemleri içerisinde Elektron Mikroskopları daha ayrıntılı, gerçekçi ve kullanışlı bilgiler vermesi bakımından önemli bir yere sahiptir. Geçirimli Elektron Mikroskobu (Transmission Electron Microscope) (TEM), sağlık uygulamalarında, dokuyu hücresel boyutta ve hatta organel boyutunda incelemeye olanak sağladığı için kirleticilerin kronik etkilerinin daha erken safhalarının belirlenmesinde oldukça kullanışlı araçlardırlar (Velmurugan 2011).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Deneylerde Kullanılacak Canlıların Elde Edilmesi ve Laboratuar Koşullarına Adapte Edilmesi

O. niloticus Africa kökenli bir balık türü olup, kültür koşullarında bakım ve üremesinin kolay olması, kirlenmeye ve çeşitli hastalıklara karşı dirençli olması bu türün kültür balıkçılığındaki önemini her geçen gün arttırmaktadır (Saruhan ve Toral 1980). Cichlidae familyası ve Tilapia olarak da bilinen *O. niloticus*, tropikal bölgelerde 18-35°C sıcaklıkta ve genellikle Nil Nehri'nde yaşayabilen bir balık türüdür. Maksimum boy 60 cm, maksimum ağırlık 4.324 kg olabilir. Kanalizasyon suyu, sulama suyu, göl, nehir gibi tatlı su ve aynı zamanda %0.2'lik tuzlu su habitatlarının geniş çeşitliliğinde yaşarlar. Çoğunlukla gündüz hareketlidirler. Besinleri genelde fitoplankton ve bentik alglerdir ve ovipardırlar. Ağız kuluçkası dişi tarafından yapılır. Deney materyali olarak kullanılan *O. niloticus* örnekleri, Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi yetiştirme havuzlarından sağlanmıştır. Balıklar anestezik madde (phenoxiethanol 200 mg/L) kullanılarak Dicle Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Hidrobiyoloji ve Akuatik Toksikoloji Araştırma laboratuarına getirilmiştir. Alınan balıkların mümkün olduğunca birbirine yakın boy ve ağırlık değerine sahip olmasına özen gösterilmiştir. Bu şekilde balık dokularında, yaşa ve ağırlığa bağlı olabilecek varyasyonların olabildiğince azaltılması amaçlanmıştır.

Dicle Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Hidrobiyoloji Araştırma laboratuvarına getirilen *O. niloticus* örnekleri, balıklar için özel olarak yapılmış iklimlendirme kabininde bulunan, içerisinde dinlendirilmiş musluk suyu bulunan ve merkezi havalandırma sistemi ile devamlı havalandırılan 40×35×40 cm boyutlarında, her akvaryumda 25 balık olacak şekilde, 6 adet akvaryuma bırakılarak, 15 gün boyunca laboratuvar şartlarına aklimasyonları sağlanmıştır. Aydınlatma dört adet flouresan lamba (Daylight 36W/54) kullanılarak yapılmıştır. Aydınlatma 14 saat aydınlık, 10 saat karanlık olacak şekilde düzenlenmiştir. Adaptasyon ve test aşamalarında laboratuar termostatlı klima ile 26±1 ^{o}C sabit sıcaklıkta tutulmuştur. Canlılar laboratuar koşullarına tam adaptasyonunu sağlamak için canlılar üzerinde 15 gün boyunca hiçbir çalışma yapılmamıştır. Adaptasyon süresi boyunca balıklar her defasında kontrollü ve izlenebilen koşullarda serbest (doyana kadar) olarak günde 1 kez ticari pellet diyetlerle beslenmiştir.

Bu periyotta balıklar hastalık kontrolünden geçirilmiş ve herhangi bir hastalığa sahip bireyler derhal ortamdan alınmıştır.

3.2. Deney Düzeneklerinin Hazırlanması

Çalışma için adı geçen pestisitlerin teknik formülasyonları (%99 saflıkta) (Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Konsantrasyonlar, LC_{50} değerlerinin onda biri dikkate alınarak ve akvaryumda bulunan suyun litresi başına hesaplanmıştır. Bu kimyasallar asetonda çözülmüş ve çözücünün canlıda herhangi bir etki yapmaması için minimum değerin kullanılması bakımından saf su ile sulandırılmıştır. Sub-akut çalışma için her pestisit için birer grup, kontrol ve aseton kontrol olmak üzere toplam 6 grup kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Her grupta, 15 balık olmak üzere toplamda 90 balık kullanılmıştır. Deney süresi 21 gün olarak belirlenmiştir. Bu çalışma için pestisitlerin LC_{50} değerinin 10 da biri tatbik edilmiştir. Diazinon'un bu balık türü için LC_{50} değeri 2800 µg/L olarak rapor edilmiştir (El-Sherif ve ark. 2009). Bundan dolayı Diazinon grubundaki canlılara litre başına 280 µg/L Diazinon verilmiştir. Carbaryl'in *O. niloticus* için 96 saatlik LC_{50} değeri 8500 µg/L bulunmuş (Liong ve ark. 1988) olduğundan Carbaryl grubundaki canlılara litre başına 850 µg/L Carbaryl tatbik edilmiştir. Atrazin'in *O. niloticus* için 96 saatlik LC_{50} değeri 9.35 mg/L olarak rapor edilmiştir (Hussein ve ark. 1996). Bu sebepten dolayı bu gruptaki canlılara litre başına 0.935 mg/L Atrazin uygulanmıştır. Yapılan bir çalışmada, Piner ve Üner (2012), Lamda-cyhalothrin'in *O. niloticus* için LC_{50} değerini 2.901 µg/L olarak rapor etmişlerdir. Bu gruptaki canlılara litre başına 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin verilmiştir. Aseton kontrol grubuna ise en yüksek çözeltide bulunan aseton miktarı litre başına uygulanmıştır.

Çizelge 3.1. Çalışma için belirlenen gruplar

Grup Numarası	**Grup Adı**
Grup I	Kontrol
Grup II	Aseton Kontrol
Grup III	850 µg/L Carbaryl Maruziyet
Grup IV	280 µg/L Diazinon Maruziyet
Grup V	0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin Maruziyet
Grup VI	0.935 mg/L Atrazin Maruziyet

3.3. Histolojik Preparatların Hazırlanması

Histopatolojik değişiklikleri belirlemek amacıyla, deney gruplarının her birinden 7., 14. ve 21. günlerin sonunda 5'er balık çıkarılmış; ağırlık ve uzunlukları belirlenmiştir. Daha sonra canlılar en kısa sürede dekapitasyonla sakrifiye edilmiştir. Sakrifiye edilen balıkların cinsiyetleri belirlendikten sonra solungaç, karaciğer, böbrek ve testis dokuları alınmıştır. Alınan dokular %10'luk formalin fiksatifi ile tespit edilmiştir. Tespitten sonra parçalar, 1 gece boyunca akarsu altına bırakılarak fiksatifin dokudan uzaklaşması sağlanmıştır. Dokular artan etil alkol serilerinden (%30, 50, 70, 80, 90, 96, 100) geçirilerek dehidratasyon işlemi yapılmıştır. Ksilende saydamlaştırılan dokular, parafin banyolarından sonra 58-60 ^{o}C'de erimiş parafin bloklara alınmıştır. Parafin bloklardan LEICA rotary mikrotom ile 4 μm kalınlığında kesitler alınmıştır. Ksilen ile parafinden kurtarılan kesitler, Hematoksilen-Eozin ile boyanmıştır (Gurr 1972). Hazırlanan preperatlar, Hidrobiyoloji Araştırma Laboratuvarı' nda bulunan Nikon NIS-Elements ECLIPS SE80i marka ışık mikroskobu ile incelenerek, Nikon Digital SIGHT-DS2MV marka fotoğraf makinesi ile fotoğraflanmıştır.

3.4. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) Analizleri

3.4.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Glutaraldehit: Dokuların fiksasyonunda kullanılmıştır.

Paraformaldehit: Dokuların fiksasyonunda kullanılmıştır.

0,1 M Sodyum fosfat tamponu: Dokuların fiksasyonu için kullanılmıştır.

Osmium tetroksit: Dokuların ikinci fiksasyonu için kullanılmıştır.

Ethanol: Doku takibinde kullanılmıştır.

Propilen oksit: Doku takibinde kullanılmıştır.

Araldit resin: Blokların gömülmesinde kullanılmıştır.

Toluidin blue: Dokuların yarı ince kesitlerinin boyanmasında kullanılmıştır.

Potasyum fosfat: Tampon hazırlanmasında kullanılmıştır.

Sodyum fosfat: Tampon hazırlanmasında kullanılmıştır.

Uranil asetat: Dokuların ince kesitlerinin boyanmasında kullanılmıştır.

3.4.2. Elektron Mikroskobunda Kullanılan Kimyasal Maddelerin İçerikleri ve Hazırlanması

3.4.2.1 Osmium Tetroksit'in Hazırlanması:

% 2 lik osmium tetroksit hazırlamak için siyah bir şişeye 5 ml distile su konulduktan sonra osmium tetroksit ampulü kırılır ve 24 saat beklenir.

3.4.2.2. Araldit'in Hazırlanması:

Araldit CY 212 0.02 M (20 ml)

Dodesennilsukinik anhidrit (DDSA) 0.02 M (20 ml)

Benzil dimetil amin (BDMA) 0.0006 M (0.6ml)

Dibutilfitalat 0.001 M (1 ml)

Maddeler yukarıdaki sırayla hava kabarcıkları yok oluncaya kadar oda sıcaklığında karıştırılır

3.4.2.3. Toluidin Blue Boyasının Hazırlanması:

Toluidin blue 0.001 M (1 gr)

Borax 0.001 M (1 gr)

Distile su 0.01 M (100 ml)

Toluidin blue boyası yukarıda verilen maddelerin sırasıyla karıştırılmasıyla ısıtıcı tablada hazırlanır.

3.4.2.4. Kurşun Nitrat Hazırlanması:

Kurşun nitrat 0.001 M (1.33 gr)

Sodyum sitrat 0.001 M (1.79 gr)

Distile su 0.03 M (30 ml)

Yukarıda verilen maddeler karıştırılarak 50 ml lik beherde yavaş bir şekilde 30 dakika süre ile karıştırılır ve daha sonra bu karışım 50 ml distile su ile tamamlanır.

3.4.2.5. Uranil Asetat Hazırlanması:

Uranil asetat etil alkolde çözünerek yanına NaOH tabletlerden konulur ve 2 saat beklenilir.

3.4.3. Örneklerin Elektron Mikroskobu İncelemesi için Hazırlanması

Canlılardan alınan dokuların diseksiyonu pH:7.4 0.1 M Fosfat tamponu ile %2.5'lik Glutaraldehit (pH: 7.2) solüsyonu içerisinde gerçekleştirilmiştir. %2.5'lik Glutaraldehit içerisinde 24 saat boyunca dokuların ilk fiksasyonu yapılmıştır. Daha sonra 3 kere 15 'er dakikada bir değiştirilmek suretiyle PH: 7.4, 0.1M Fosfat tamponu ile yıkanmıştır. İkinci fiksasyon Osmium tetroksit içerisinde 2 saat rotatorda döndürülerek oda sıcaklığında yapılmıştır. Doku daha sonra 3 kez 15'er kez fosfat tamponunda yıkanmıştır. Dehidratasyon işleminde, +4 °C' de %50, %70, %90 lik etil alkol 2 şer kez 15'er dakika; %96, %100'lık etil alkol de 2'şer kez 30 dakika olarak uygulanmıştır. Daha sonra dokular propilen oksitte 2 kez 30'ar dakika, rotatorda 1:1 oranındaki propilen oksit ve araldit karışımında 2 saat bekletilmiştir. Dokular saf araldit içerisinde rotatorda bir gece bekletildikten sonra gömme işlemi yapılmıştır. Polimerizasyon işlemi 2 gün boyunca 60°C lik etüvde gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın bu basamağı Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirilmiştir.

3.4.4. Yarı İnce Kesitlerin Alınması

Bloklar trimlendikten sonra Leica Marka (Leica AG, Rechert Division, Type: 705901, Fabr Nr: 418316) Ultramikrotomda 800 µ'luk yarı ince kesitler alınmıştır. Alınan ince kesitler petri kabına konulan toluidin blue boyası içinde 7 dakika bekletilmiştir. Daha sonra temiz petri kabına konulan distile su içinde 2-3 dakika bekletildikten sonra fazla boyadan arındırılmıştır. Lamlara alınıp kuruduktan sonra ışık mikroskobunda incelenerek bölge seçimi yapılmıştır. Çalışmanın bu basamağı Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirilmiştir.

3.4.5. İnce Kesitlerin Alınması

70-100 µm olan ince kesitler 200 mesh bakır gridler üzerine alınıp %2'lik uranil asetat'ta 1 saat süresince boyanmıştır. Gridler, fosfat tamponu ile yıkandıktan sonra 15 dakika kurşun asetat ile muamele edilmiştir. Kurşun asetat ile muamelesinden sonra tekrar yıkanmış, böylece numuneler elektron mikroskobunda incelemeye hazır hale

getirilmiştir. Çalışmanın bu basamağı Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirilmiştir.

3.4.6. Örneklerin Geçirimli Elektron Mikroskobunda (TEM) İncelenmesi

Örnekler Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezinde bulunan Jeol Marka JEM-1010 model Geçirimli Elektron Mikroskobu ile incelenmiş ve sitopatolojik değişiklikler aynı elektron mikroskobuna bağlı GATAN marka, 782 yandan girişli ES500W Erlangshen Model CCD kamera ile fotoğraflanmıştır.

3.5. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizleri

Solungaç dokuları, %2.5 luk pH'ı 7.2 olan gluteraldehit ve pH'ı 7.4 olan 0,1 M fosfat tamponu bulunan solüsyonda 3 saat bekletilmiştir. pH'ı 7.4 olan 0.1 M fosfat tamponuyla yıkandıktan sonra örnekler, artan ethanol konsantrasyonlarında dehidre edilmiştir. Daha sonra örnekler Dicle Üniversitesi Bilimve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde bulunan FEI marka QUANTA 250 model Taramalı Elektron Mikroskobu ile incelenerek solungaç dokularında meydana gelen utrasükrüktürel değişiklikler fotoğraflanmıştır.

3.6. Verilerin Değerlendirilmesi ve Sonuçlandırılması

Histopatolojik ve sitopatolojik lezyonlar için herhangi bir kantitatif skorlama sistemi yoktur (dos Santos ve ark. 2012). Eğer canlının bir ya da birden fazla organında patoloji belirlenirse, bu patolojinin tüm canlıda meydana geldiği düşünülmüştür.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Histopatolojik Bulgular

4.1.1. Solungaç

Teleost balıklar beş çift solungaç yayına sahiptir. Bu solungaç yayları, solungaç filamentleri ve filamentlerin üzerinde yer alan sekonder lamellerden oluşmaktadır. Çok sayıda semisirküler sekonder solungaç lamelleri, filamentlerin iki yanı boyunca dizilmektedirler. Solungaç lamellerinin yüzeyi basit tek katlı bir yassı epitel tabakasıyla örtülüdür ve sekonder lamellerde bulunan kılcal damarlar, yapıya desteklik sağlayan pillar hücreleri ile ayrılmıştır (Şekil 4.1a ve b). Bu kılcal damarlarda kan yüzeye paralel olarak akmaktadır. Sekonder lamellerin bazı kısımlarında ve bazal epitelde yer yer mukus hücreleri yer almaktadır. Klorid hücreleri ise sekonder lamellerin tabanında bulunur. Bu hücreler solungaçlarda iyon değişiminin gerçekleşmesini sağlarlar.

21 gün boyunca kontrol (Grup I) ve aseton kontrol (Grup II) gruplarında bulunan *O. niloticus* bireylerinin solungaç dokusunda herhangi bir histopatolojik değişikliğe rastlanmamıştır (Şekil 4.1a ve Şekil 4.1b).

Bu çalışmada Carbaryl, Diazinon, Lambda-cyhalothrin'e ve Atrazin'e maruz bırakılan balıkların solungaçlarında önemli değişiklikler meydana gelmiştir.

4.1.1.1. Carbaryl Grubunda (Grup III) Belirlenen Histopatolojik Bulgular

850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan canlıların 7. günün sonunda solungaçlarında epitel ayrılması, hafif hiperplazi, epitellerde hipertrofi ve pillar hücrelerinin çökmesine bağlı sopa şekilli sekonder lameller gözlenmiştir (Şekil 4.2).

14 gün boyunca 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan canlıların solungaç dokularında meydana gelen histopatolojik değişikliklerin şiddeti zamana bağlı olarak artmıştır. 14. günde *O. niloticus* bireylerinin solungaç dokularında şiddetli hiperplazi ve buna bağlı olarak sekonder lamellerin füzyonu, pillar hücrelerinde çökme, epitel dokusunda kalınlaşma, nekroz ve epitel hipertrofisi görülmüştür (Şekil 4.3).

En önemli değişiklikler, Carbaryl maruziyetinin en uzun süre olduğu 21. günde gözlenmiştir. 21 gün sonunda sekonder lamellerin tamamen birleştiği gözlenmiştir. Ayrıca solungaçlarda klorid hücrelerinde hipertrofi meydana gelmiştir. Lamellerde

meydana gelen nekroz, en şiddetli histopatolojik değişim olarak göze çarpmaktadır (Şekil 4.4).

4.1.1.2. Diazinon Grubunda (Grup IV) Belirlenen Histopatolojik Bulgular

280 µg/L Diazinon kosantrasyonuna 7 gün süre ile maruz kalan balıkların solungaçlarında epitel ayrılması, pillar hücrelerinde çökmeye bağlı olarak baston şekilli sekonder lameller, hafif hiperplazi ve sekonder lamel epitelinde deskuamasyon gözlenmiştir (Şekil 4.5).

14 günün sonunda dokulardaki histopatolojik değişikliklerin şiddeti pestisit maruziyetinin artmasına paralel olarak artmıştır. Bu dönemde balıkların solungaçlarında şiddetli epitel hiperplazisi, epitel ayrılması, yer yer nekroze bölgeler, epitel hücrelerinde hipertrofi ve sekonder lamellerde anevrizma gözlenmiştir. Pillar hücrelerinde meydana gelen çökmelere bağlı olarak sekonder lamellerde şekil değişikliği belirlenmiştir (Şekil 4.6).

21 günün sonunda solungaçlarda en fazla göze çarpan değişiklik sekonder lamellerde kan sirkülasyonunun bozulmasına bağlı olarak gerçekleşen anevrizmadır (Şekil 4.7). Anevrizmanın yanı sıra solungaçlarda sekonder lamellerin füzyonu, epitel ayrılması, epitel hiperplazisi ve hipertropisi ve nekroz görülmektedir.

4.1.1.3. Lambda-cyhalothrin Grubunda (Grup V) Belirlenen Histopatolojik Bulgular

0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaç dokularında 7. günün sonunda, diğer pestisitlerin aynı gün sonunda dokularda meydana getirdikleri histopatolojik değişiklikden daha şiddetli değişikliler gözlenmiştir. 7. Günün sonunda solungaç dokularında bu pestisitin maruziyetine bağlı olarak anevrizma, sekonder lamellerde epitel ayrılması, epitel hiperplazisi gözlenmiştir (Şekil 4.8).

14 günün sonunda Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan canlıların solungaçlarında epitel ayrılması, epitel hipertrofisi, sekonder lamel epitellerinde dökülme, pillar hücrelerinde çökme gözlenmiştir (Şekil 4.9).

21. günde solungaç dokularında meydana gelen histopatolojik değişikliklerin şiddeti artmıştır. 21 gün sonunda solungaç dokularında meydana gelen histopatolojik

değişiklikler pillar hücrelerinde çökme, şiddetli epitel hiperplazisi, anevrizma, epitel dökülmesi ve sekonder lamellerin füzyonu olarak sıralanabilir (Şekil 4.10).

4.1.1.4. Atrazin Grubunda (Grup VI) Belirlenen Histopatolojik Bulgular

0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaç dokularında 7. günün sonunda epitel ayrılması, pillar hücrelerinde çökme ve hafif hiperplazi gözlenmiştir (Şekil 4.11).

14 günün sonunda solungaç dokularında pestisit maruziyetine bağlı olarak meydana gelen histopatolojik değişikliklerin şiddetinin arttığı gözlenmiştir. Bu dönemde balıkların solungaçlarında epitel ayrılması devam ederken dokularda aynı zamanda anevrizma, pillar hücrelerinin çökmesine bağlı olarak sekonder lamellerde şekil bozukluğu ve hiperplazi gözlenmiştir (Şekil 4.12).

Atrazin'e maruz bırakılan canlıların solungaçlarında meydana gelen en şiddetli histopatolojik değişiklikler 21 günün sonunda gözlenmiştir. Bu dönemde solungaç dokularında şiddetli epitel hiperplazisi, anevrizma, epitel dökülmesi ve pillar hücrelerinde çökme gözlenmiştir (Şekil 4.13).

Balıklarda solungaçlar, balık vücudunun tüm yüzey alanının yarısını oluşturmaktadır (Cengiz 2006). Solungaç epiteli balığın iç çevresini dış çevreden ayıran ince bir tabaka olduğu için çevresel kirlenmelere karşı oldukça hassastır.

Balıklarda solungaçlar solunum, osmoregülatör ve salgı işlevlerinden dolayı en hassas organlar arasında yer almaktadır. Balıkların solungaçlarında meydana gelen solunum zorluğu, pestisit zehirlenmesinin erken semptomlarından biridir (McDonald 1983).

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

Bu çalışmada en sık rastlanılan histopatolojik değişiklik sekonder lamellerde meydana gelen epitel ayrılması olarak belirlenmiştir. Epitel ayrılması pestisit maruziyetinin ilkin semptomu olarak düşünülmektedir. Temmink ve ark. (1983), solungaç lezyonlarını, toksik maddelerin direkt zararlı etkileri ve balığın savunma

yanıtları olarak iki gruba ayırmışlardır. Epitel nekrozu ve solungaç epitelinin deskuamasyonu pestisit faaliyeti ile meydana gelen direkt zararlı etkiler olarak tanımlamışlardır.

Epitelin ayrılması ve lamellerin füzyonu ise, balığın pestisite karşı göstermiş olduğu savunma yanıtları olarak belirtmişlerdir. Wood (2001) ve Au (2004), solungaçlarda meydana gelen epitel ayrılmasının en sık rastlanan histopatolojik lezyon olduğunu ve bu lezyonun difüzyon yüzey alanını arttırarak ve böylece interlamelar mesafeyi azaltarak solungaçlardan gaz alışveriş hacmini düşürdüğünü bildirmişlerdir.

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

Lamellerin füzyonu, hiperplazi ve klorid hücresi gibi filament hücrelerinin nekrozu solungaçlarda rapor edilen diğer sık rastlanan patolojilerdir (Reddy ve Rawat 2013). Fakat bu patolojilerin daha çok metal kaynaklı maruziyetlerde ortaya çıktığı bildirilmiştir. Bu durumun metallerin, iyon taşıyıcı proteinler ile direkt olarak etkileşime geçmesi ve bu proteinlerin aktivitesini inhibe etmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Reddy ve Baghel 2010, Butchiram ve ark. 2013).

Sekonder lamel epitel hücrelerinde gerçekleşen hipertrofi muhtemel olarak nekroze hücre şişmesinin bir sonucu olarak bildirilmektedir (Bury ve ark. 1998). Solungaçlarda meydana gelen hücre hipertrofisi aynı zamanda, asit-baz ve iyon dengesinin bozulması sonucu, klorid hücrelerinin yüzey alanının genişlemesinden dolayı epitel hücrelerinin küçülmesine neden olmaktadır (Goss ve ark. 1995).

Epitel, mukus ve klorid hücrelerinin aşırı çoğalması, toksik kimyasalların branşiyal yüzeye daha az geçmesini sağlamak için meydana gelen birer savunma tepkisi olmalarına rağmen, bu patolojiler solunum gazlarının alınmasının engellenmesine ve sonuç olarak canlının boğulmasına sebep olabilirler (McDonald ve Wood 1993). Akut

letal maruziyetten daha sık kronik maruziyette görülen bu değişimler, kan-su difüzyon alanını arttırıp, interlamellar alanı azaltarak solunum gazlarının solungaçlardan geçiş hacmini düşürmektedir (Greco ve ark. 1995).

Lökosit infiltrasyonu ile ortaya çıkan anevrizma ve marjinal kanalların genişlemesi sonucu meydana gelen kan pıhtılaşması kaynaklı tıkanma, yangı tepkileri olarak düşünülmekte ve balıkların genellikle daha şiddetli bir stres altında kaldıklarında meydana geldiği bildirilmektedir (Rosety-Rodriguez ve ark. 2002).

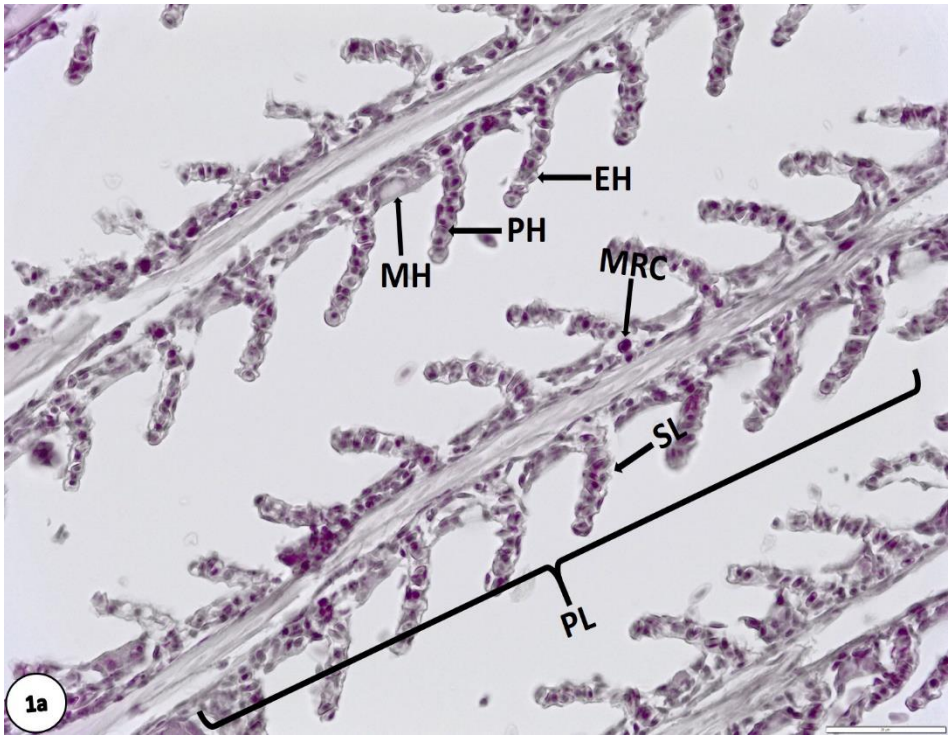
Bu çalışmada, solungaçlarda gözlenen anevrizma, deltamethrin uygulanan *Cyprinus carpio*'da (Cengiz 2006) ve *Gambusia affinis*'de (Cengiz ve Unlu 2006) de rastlanmıştır. Anevrizma, pillar hücre sisteminin tamamen çökmesinden ve lamel epitelini dışarıya iten çok miktardaki kanın sekonder lamellerde birikmesi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

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

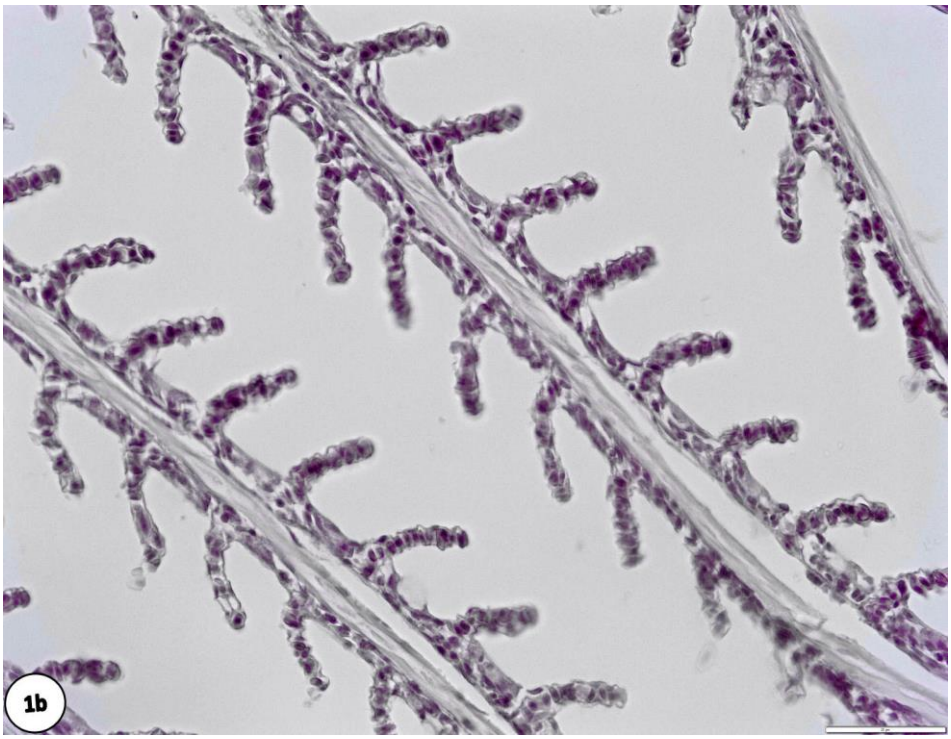
Bu çalışmada gözlenen respiratör epitelinin ayrılması, solungaç epitellerinin hipertrofisi ve komşu sekonder lamellerin hiperplaziden dolayı füzyonu gibi histopatolojik değişiklikler; klorin dioksit ve dimecron uygulanan çeşitli balık türlerinde

de gözlenmiştir (Yonkos ve ark. 2000, Sakthivel ve Gaikwad 2001). Bu çalışmada saptanan epitel hücrelerinde gözlenen nekroza ise cyphenothrin uygulanan balık türlerinde de rastlanmıştır (Erkmen ve ark. 2000). Paraquatın *Puntius gonionatus*'ın solungaçlarında yol açtığı epitel hücrelerindeki vakuolleşmeye (Sinhaseni ve Tesprateep 1987) bu çalışmada rastlanmamıştır. Karan ve ark. (1998), bakır sülfat uygulanmış *Cyprinus carpio*'nun solungaçlarında epitel hiperplazisi, sekonder lamellerin kıvrılması gibi lezyonlar gözlemişlerdir.

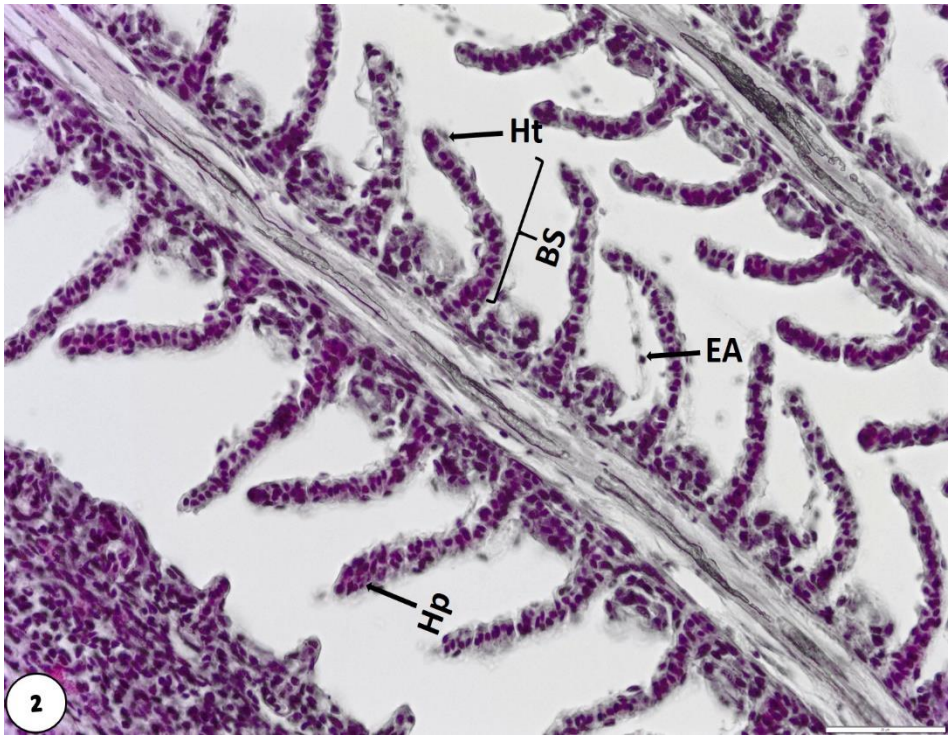
Çalışmada gözlenen nekroz, epitel hücrelerinin hiperplazisi, sekonder lamellerin füzyonu, epitel ayrılması, anevrizma ve pillar hücrelerinde çökme balık solungaçları üzerinde yapılan pestisit kaynaklı histopatolojik değişimleri belirleyen birçok çalışmada da rapor edilmiştir. Karan ve ark. (1998), yaptıkları bir çalışmada pestisite maruz bıraktıkları balıkların solungaç dokularında epitel hiperplazisi ve pillar hücrelerinin çökmesine bağlı olarak sekonder lamellerde şekil bozukluğu rapor etmişlerdir. Yapılan bir diğer çalışmada Carbaryl ve manebin belirli dozlarına maruz bırakılan *Oncorhynchus mykiss* bireylerinin solungaç dokularında epitel ayrılması, sekonder lamellerde füzyon, nekroz, hiperplazi, epitel hücrelerinde hipertrofi gözlenmiştir (Boran ve ark. 2010). Velmurugan ve ark. (2007), *Cirrhinus mrigala* bireylerinin dokularında Lambda-cyhalothrin'in etkilerini incelemişler ve bu pestisitin belirli konsantrasyonlarının 10. günün sonunda solungaç dokularında epitel hiperplazisi, anevrizma, epitel nekrozu, ödem, epitel dökülmesi, sekonder lamellerde füzyon meydana getirdiğini bildirmişlerdir.



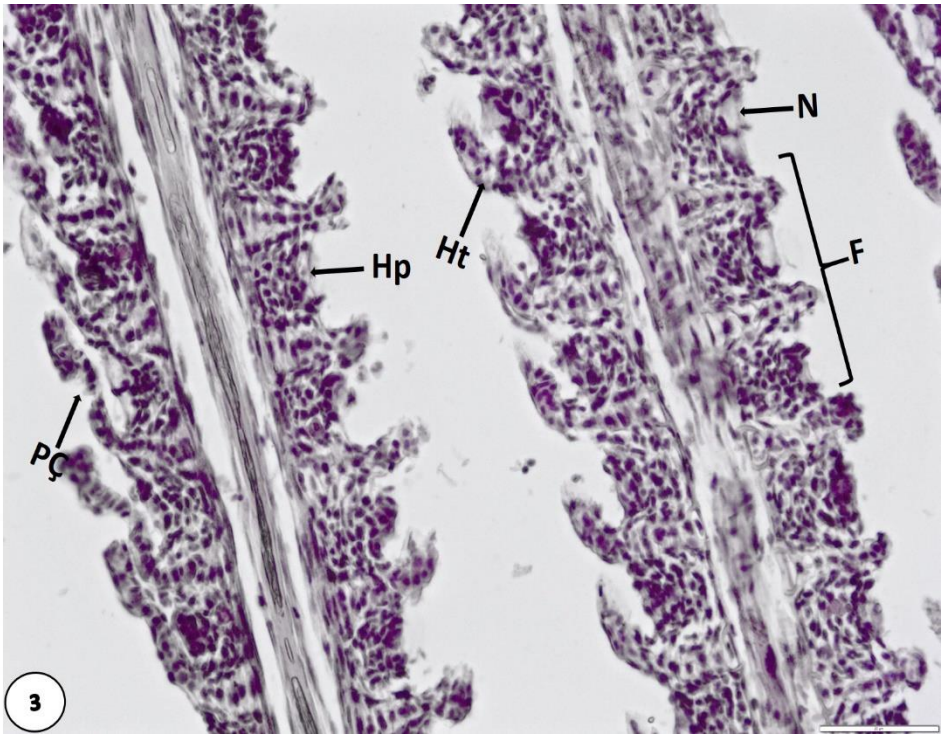
Şekil 4.1a. Kontrol (Grup I) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin solungaç yapısı: primer lamel (PL), sekonder lamel (SL), pillar hücresi (PH), mukus hücresi (MH), epitel hücresi (EH), klorid hücresi (MRC). (40X) (Hematoksilen-Eosin) (21. Gün)



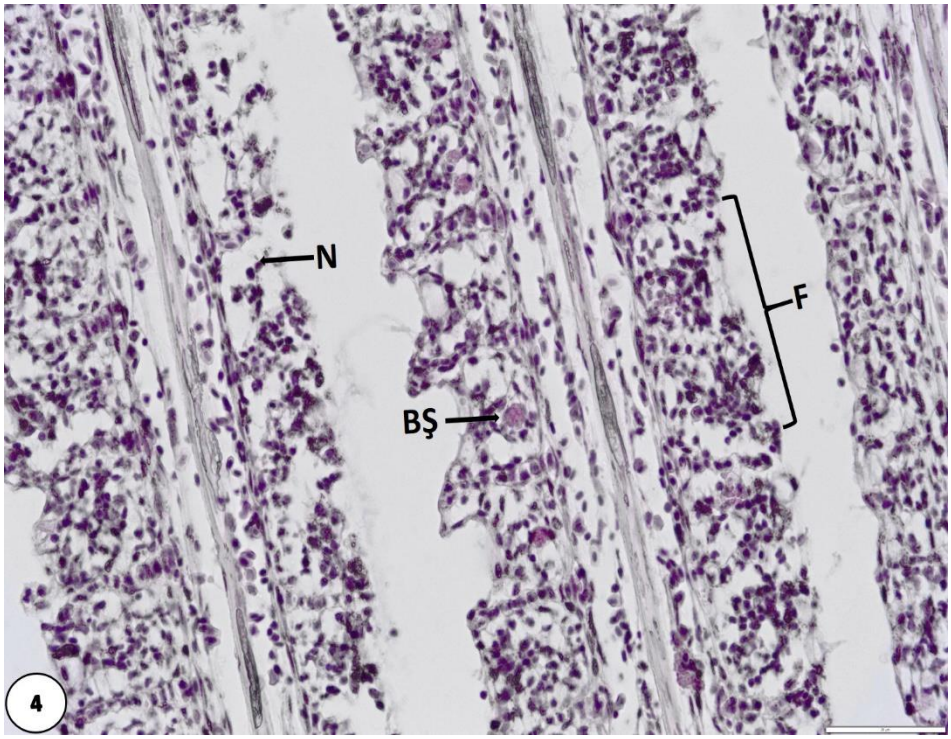
Şekil 4.1b. Aseton kontrol (Grup II) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin solungaç yapısı (Hematoksilen-Eosin) (21. Gün)



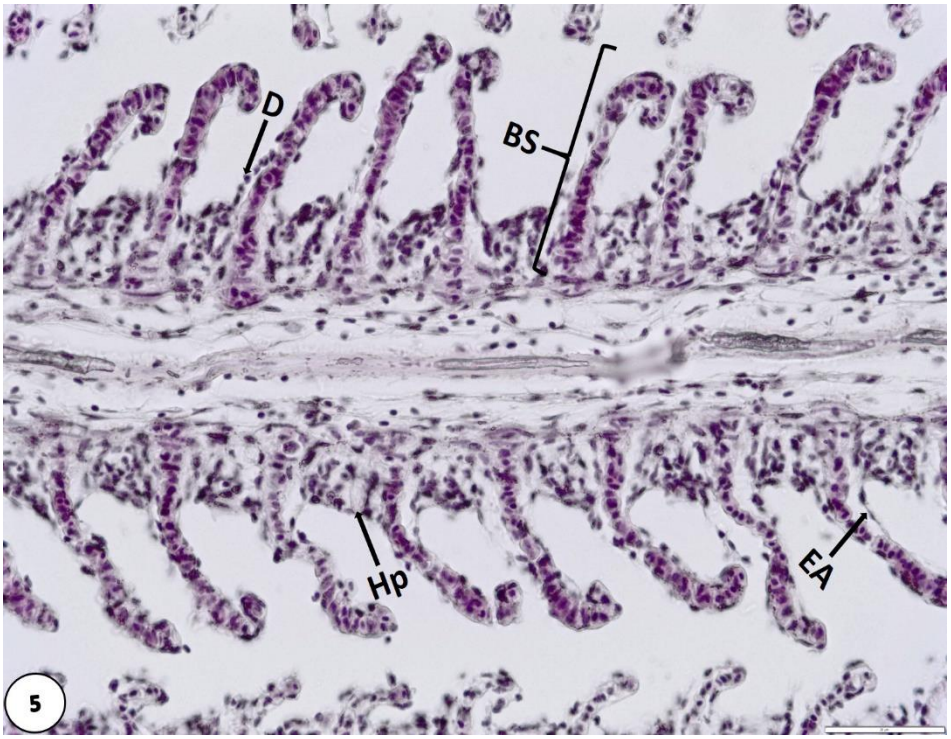
Şekil 4.2. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: epitel ayrılması (EA), epitel hiperplazisi (Hp), epitel hipertrofisi (Ht), d) baston şekilli sekonder lamel (BS) (Hematoksilen-Eosin) (21. Gün) (40X).



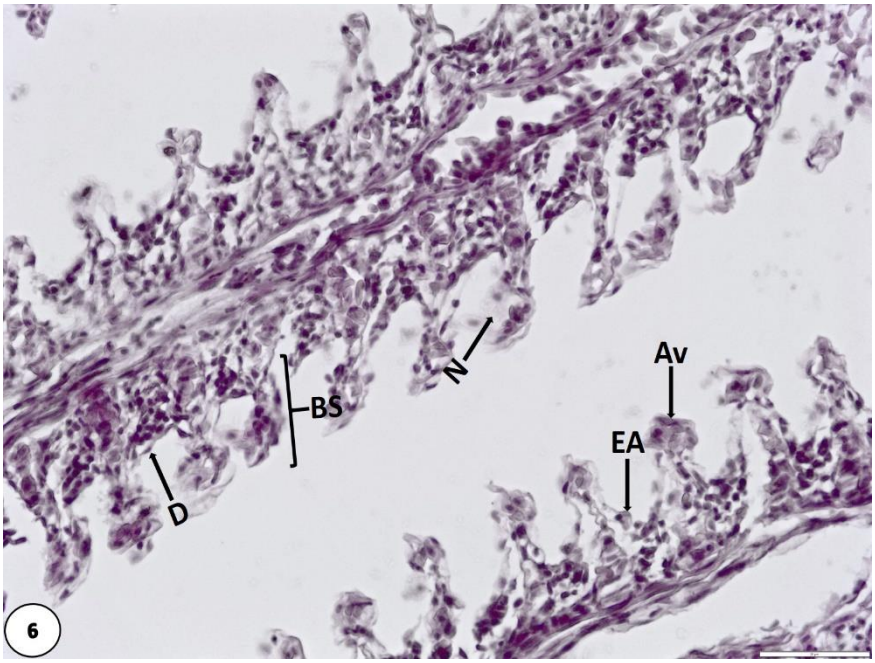
Şekil 4.3. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: hiperplazi (Hp), pillar hücrelerinde çökme (PÇ), sekonder lamellerde füzyon (F), nekroze bölge (N), epitel hipertrofisi (Ht) (Hematoksilen-Eosin) (21. Gün) (40X).



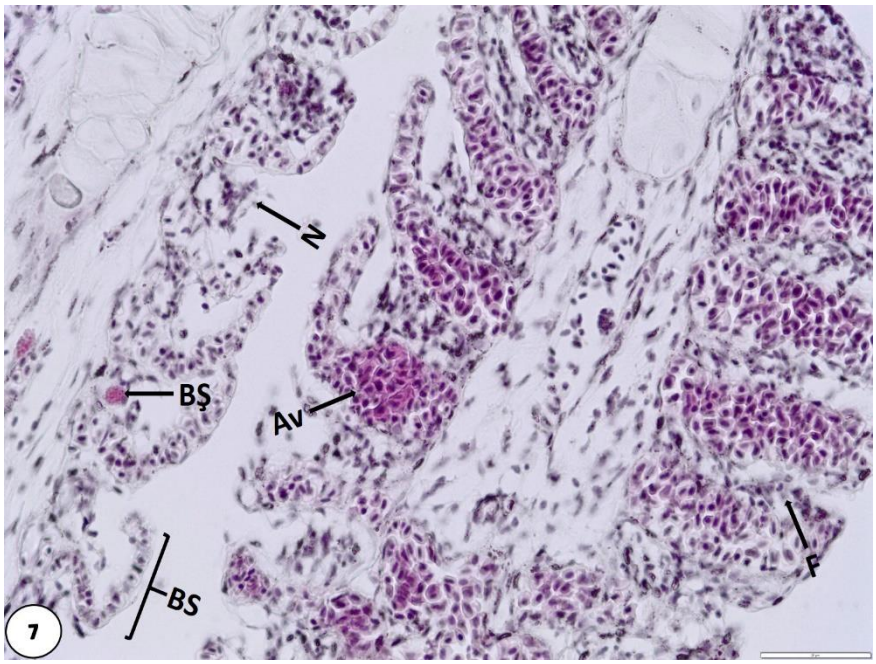
Şekil 4.4. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: nekroz (N), sekonder lamellerde füzyon (F), klorid hücresinde bulutlu şişme (BŞ) (40X). (Hematoksilen-Eosin) (21. Gün).



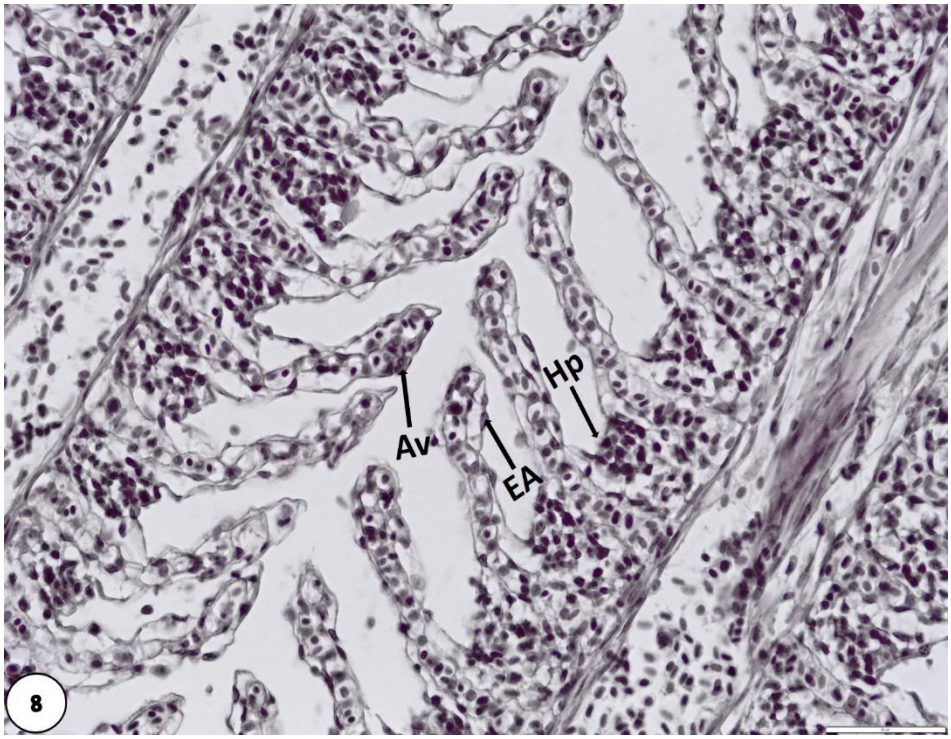
Şekil 4.5. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: epitel ayrılması (EA), deskuamasyon (D), hiperplazi (Hp), baston şekilli sekonder lamel (BS) (40X). (Hematoksilen-Eosin) (21. Gün).



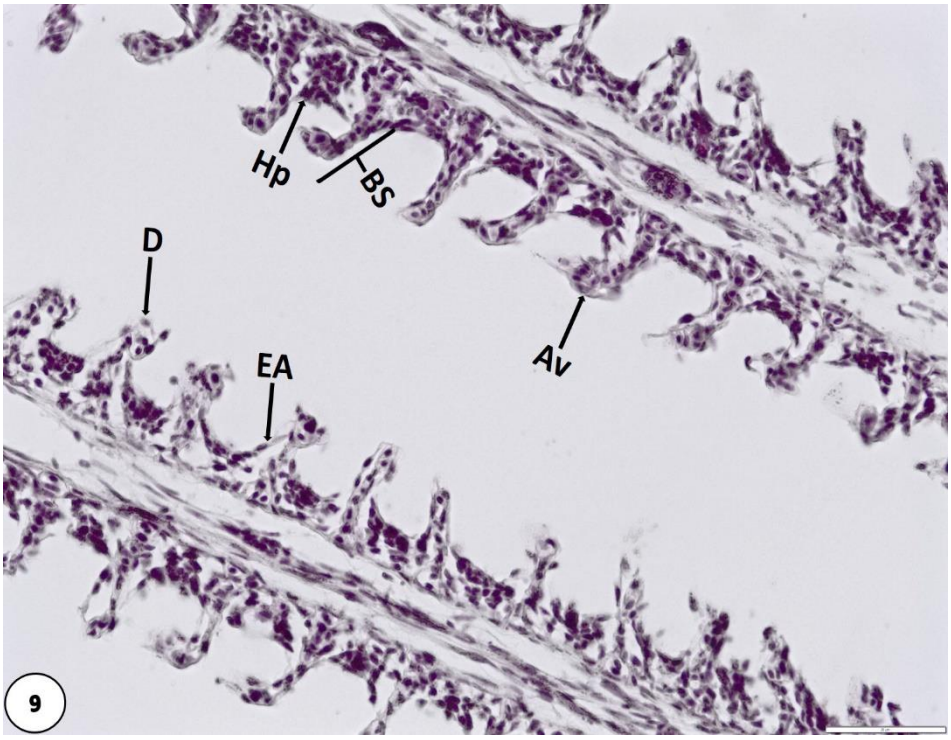
Şekil 4.6. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: epitel ayrılması (EA), deskuamasyon (D), nekroz (N), anevrizma (Av), baston şekilli sekonder lamel (DS) (40X) (Hematoksilen-Eosin)



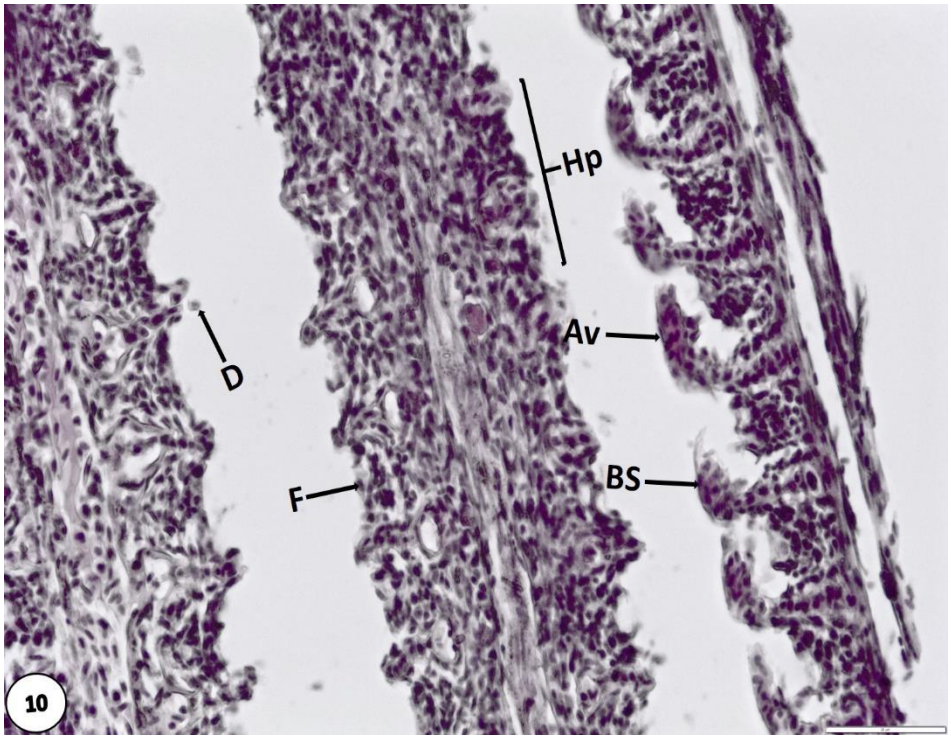
Şekil 4.7. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: anevrizma (Av), sekonder lamellerde füzyon (F), baston şekilli sekonder lamel (BS), nekroz (N), bulutlu şişme (BŞ)(40X) (Hematoksilen-Eosin).



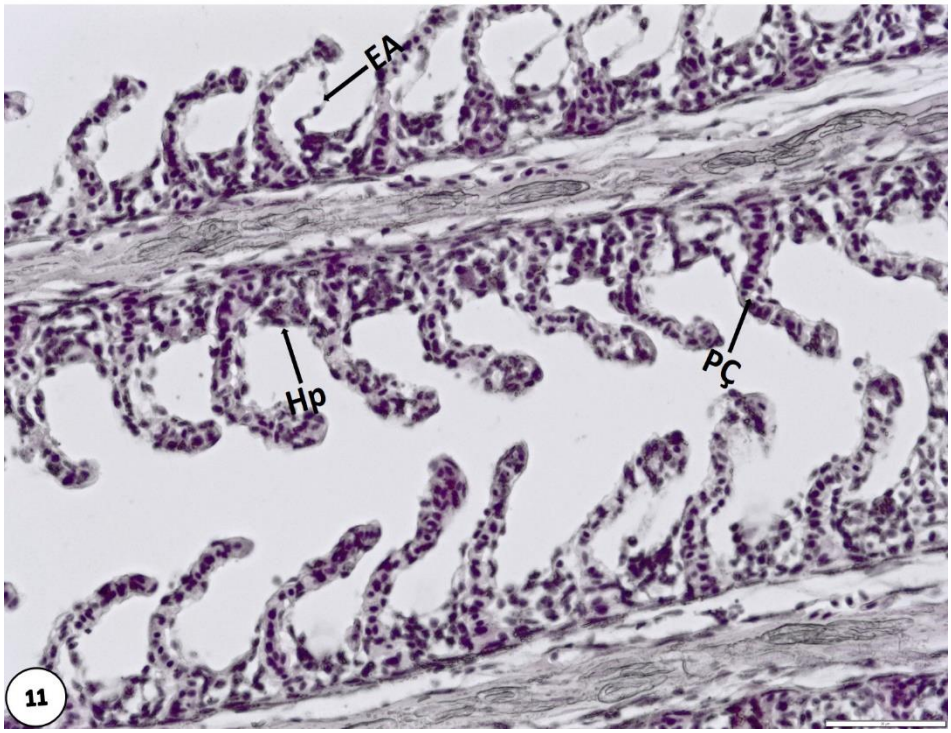
Şekil 4.8. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: anevrizma (Av), epitel ayrılması (EA), epitel hiperplazisi (Hp) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



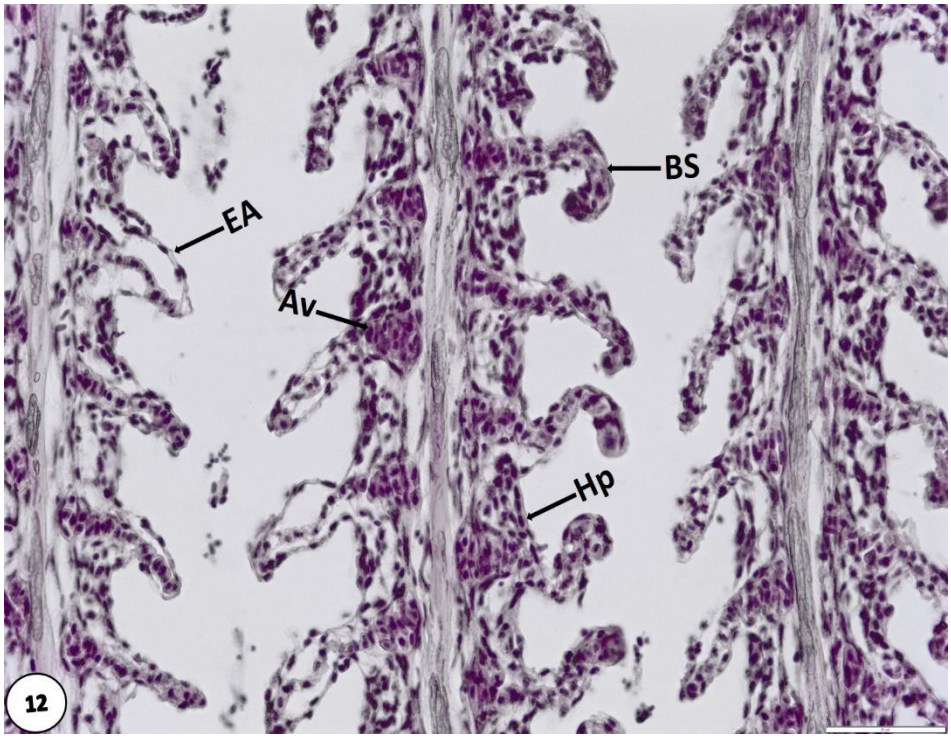
Şekil 4.9. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: epitel ayrılması (EA), hiperplazi (Hp), deskuamasyon (D), anevrizma (Av), baston şekilli sekonder lamel (BS) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



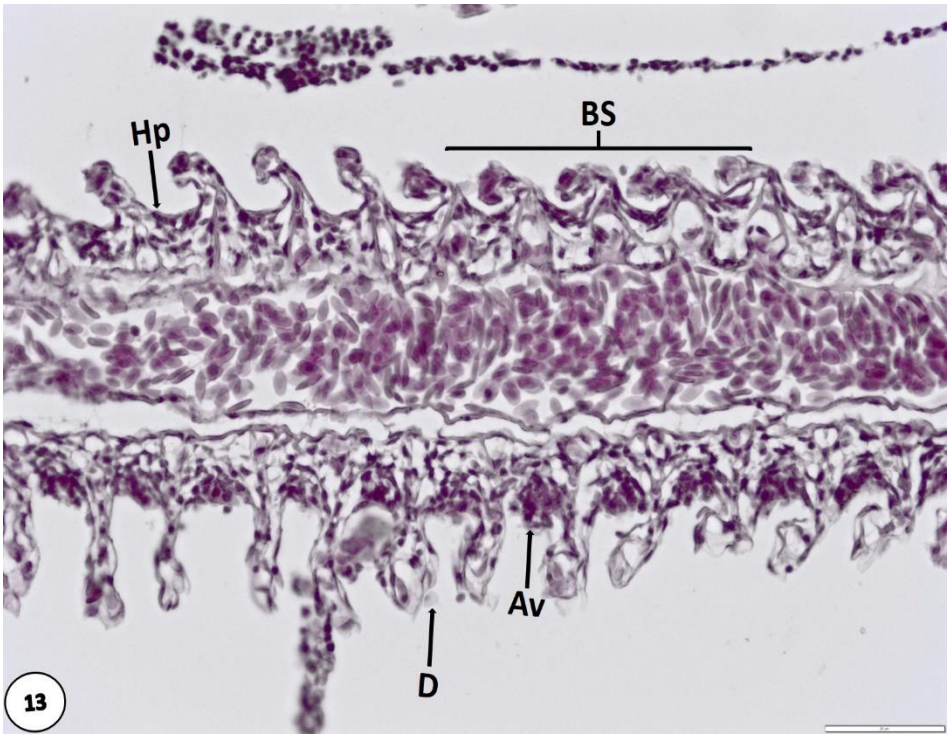
Şekil 4.10. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: anevrizma (Av), deskuamasyon (D), epitel hiperplazisi (Hp), sekonder lamellerde füzyon (F), baston şekilli sekonder lamel (BS) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



Şekil 4.11. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: epitel ayrılması (EA), pillar hücrelerinde çökme (PÇ), epitel hiperplazisi (Hp) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



Şekil 4.12. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: epitel ayrılması (EA), anevrizma (Av), epitel hiperplazisi (Hp), baston şekilli sekonder lamel (BS) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



Şekil 4.13. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: deskuamasyon (D), hiperplazi (Hp), anevrizma (D), baston şekilli sekonder lamel (BS) (40X) (Hematoksilen-Eosin).

4.1.2. Böbrek

Teleost balıklarda böbrek, anteriyor (baş) ve posteriyor (gövde) böbrek olarak iki kısma ayrılır. Anteriyor (baş) böbrek lenfoid dokudan meydana gelir. Posteriyor (gövde) böbrek ise birçok nefrondan oluşur ve yapısında interstitiyal lenfoid doku vardır. Nefronlarda bulunan renal korpuskul, glomerulus ve Bowman kapsülünden oluşmaktadır. Kanın süzülme işlemi burada gerçekleşir (Şekil 4.14a ve 14b). Glomerulus kılcal kan damarı kümesidir. Glomerulusun mikroskobik fotoğrafları kapiller boşluğun içten endotelyal hücreler tarafından sarıldığını ve bunların lümenlerinde çekirdekli kan hücrelerinin bulunduğunu göstermektedir. Kapiller arası boşluk ise mezangiyal hücreler tarafından doldurulmaktadır. Bowman kapsülünün iç yüzeyinde ise epitel hücreleri bulunmaktadır. Proksimal ve distal tübüller, segmentine göre oval ya da küresel, merkezi ya da bazal yerleşimli nükleusu olan, uzun silindirik hücreler tarafından sarılmıştır (Velmurugan 2011).

Yaptığımız çalışmada 21 gün boyunca kontrol (Grup I) ve aseton kontrol (Grup II) gruplarında bulunan *O. niloticus* bireylerinin böbrek dokusunda herhangi bir histopatolojik değişikliğe rastlanmamıştır (Şekil 4.14a ve 14b).

4.1.2.1. Carbaryl Grubunda (Grup III) Belirlenen Histopatolojik Bulgular

850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan canlıların 7. günün sonunda böbreklerinde glomeruluslarda atrofi, piknotik çekirdek, bölgesel nekroz, böbrek tübül epitel hücrelerinde hipertrofi, deformasyon ve hidrofik dejenerasyon gözlenmiştir (Şekil 4.15).

14 gün boyunca 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan canlıların böbrek dokularında meydana gelen histopatolojik değişikliklerin şiddeti zamana bağlı olarak artmıştır. 14. günde *O. niloticus* bireylerinin böbrek dokularında glomeruluslarda atrofi daha belirgin hale gelmiştir ve buna bağlı olarak glomerulus kapiller boşluğunda genişleme meydana gelmiştir. Piknotik çekirdeklerin sayısında artış kaydedilmiştir, dokuda meydana gelen nekroz daha yaygın olarak gözlenmiştir, böbrek tübül epitel hücrelerinde dejenerasyona (muhtemel yağ dejenerasyonu) bağlı hipertrofi, ve hidrofik dejenerasyon sıklığı artmıştır (Şekil 4.16).

En dramatik değişiklikler, Carbaryl maruziyetinin en uzun süre olduğu 21. günde gözlenmiştir. 21 gün sonunda glomeruluslardaki atrofinin şiddeti ve buna bağlı olarak glomerulus kapiller boşluğunun genişliği oldukça artmıştır. Hidrofik dejenerasyon tüm

böbrek dokusu boyunca gözlemlenmiştir. Nekroz, doku boyunca yayılım göstermiştir. Muhtemel yağ dejenerasyonu sonucu birçok tübül epitel hücresinde hipertrofi ve buna bağlı olarak renal tübül lümeninde atrofi meydana geldiği rapor edilmiştir. Ayrıca piknotik hücre sayısında oldukça fazla bir artış tespit edilmiştir (Şekil 4.17).

4.1.2.2. Diazinon Grubunda (Grup IV) Belirlenen Histopatolojik Bulgular

280 µg/L Diazinon kosantrasyonuna 7 gün süre ile maruz kalan balıkların böbreklerinde Carbaryl'e aynı süre boyunca maruz bırakılan bireylerden daha hafif patoloji gözlenmiştir. Glomeruluslarda hafif atrofi, tübül epitel hücrelerinde hipertrofi, buna bağlı olarak renal tübül lümeninde atrofi ve az sayıda piknotik çekirdek tespit edilen histopatolojik bulgulardır (Şekil 4.18).

14 günün sonunda dokulardaki histopatolojik değişikliklerin şiddeti, pestisit maruziyetine paralel olarak artmıştır. Bu dönemde balıkların böbreklerinde nekroz görülmeye başlanmıştır. Glomeruluslarda görülen atrofinin şiddeti artmış ve böylelikle Bowman kapsülü ile glomerulus arasındaki boşlukta genişleme meydana geldiği gözlenmiştir. Tübül epitellerinde ise hidrofik dejenerasyon belirlenmiştir. Epitel hücrelerinde hiperplazi ve piknozis artmıştır (Şekil 4.19)

21 günün sonunda böbreklerde en fazla göze çarpan histopatolojik değişiklik nekroze bölgelerin sayısındaki artıştır. Bunun yanısıra tübül hücrelerinde, hidrofik dejenerasyon patolojisi de artmıştır. Glomeruluslarda meydana gelen atrofinin şiddeti artmış ve piknotik çekirdekler çoğalmıştır (Şekil 4.20).

4.1.2.3. Lambda-cyhalothrin Grubunda (Grup V) Belirlenen Histopatolojik Bulgular

0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbrek dokularında 7. günün sonunda, diğer pestisitlerin aynı gün sonunda dokularda meydana getirdikleri histopatolojik değişiklikden daha şiddetli değişikliler gözlenmiştir. 7. günün sonunda böbrek dokularında bu pestisitin maruziyetine bağlı olarak hidrofik dejenerasyon, tübül epitel hücrelerinde hipertrofi, az sayıda nekrotik bölge ve glomerulus atrofisi ve buna bağlı olarak glomerulus kapiler boşluğunda genişleme gözlenmiştir (Şekil 4.21).

14 günün sonunda Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan canlıların böbreklerinde nekroze bölgelerin sayısında ve şiddetinde artış görülmüştür. Ayrıca hidrofik dejenerasyon, hipertrofi, piknotik çekirdek sayısı da artmıştır (Şekil 4.22).

21. günde böbrek dokularında meydana gelen histopatolojik değişikliklerin şiddeti artmıştır. 21 gün sonunda glomeruluslarda şiddetli atrofi ve buna bağlı olarak glomerulus kapiler boşluğunda genişleme gözlenmiştir. Nekroz böbrek dokusunun geniş bir alanına yayılmış, hidrofik dejenerasyon, hipertrofi ve piknotik çekirdek sayısında artış meydana gelmiştir. Ayrıca böbrek hücrelerinde yağ dejenerasyonuna bağlı olduğu düşünülen yapısal bozukluklar gözlenmiştir (Şekil 4.23).

4.1.2.4. Atrazin Grubunda (Grup VI) Belirlenen Histopatolojik Bulgular

0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbrek dokularında 7. günün sonunda piknotik çekirdek, renal tübül epitel hücrelerinde hidrofik dejenerasyon, glomeruluslarda hafif atrofi ve hipertrofi gözlenmiştir (Şekil 4.24).

14 günün sonunda böbrek dokularında pestisit maruziyetine bağlı olarak meydana gelen histopatolojik değişikliklerin şiddetinin arttığı gözlenmiştir. Bu dönemde balıkların böbreklerinde hidrofik dejenerasyon devam ederken bu patolojinin sıklığı artmıştır ve buna bağlı olarak renal tübül lümeninde daralma meydana gelmiştir. Ayrıca 14. günde böbrek dokularında nekroz görülmeye başlanmıştır. Tübül epitellerinde gözlenen hipertrofi sayısı artmış ve glomerulusların atrofisi şiddetlenmiştir (Şekil 4.25).

Atrazin'e maruz bırakılan balıkların böbreklerinde meydana gelen en şiddetli histopatolojik değişiklikler 21. günün sonunda gözlenmiştir. Bu dönemde böbrek dokularında nekroz artmıştır. Piknotik çekirdek, tübül epitelinde hipertrofi, hidrofik dejenerasyon sayısı artmıştır. Glomeruluslarda atrofi en şiddetli halindedir (Şekil 4.26).

Balıklarda böbrekler balık vücudunda elektrolit ve su dengesini sağlamak gibi önemli görevlere sahiptir (Velmurugan ve ark. 2010). Bu sayede balık hemostasisinin stabil kalmasını sağlar.

Böbrekler, solungaçlardan sonra kanın en büyük oranını içermektedir ve bu yüzden renal lezyonlar çevresel kirliliğin iyi bir indikatörü olarak kabul edilmektedir (Ortiz ve ark. 2003). Pestisitler gibi toksik olaylara balığın maruz bırakılması sonrasında,

glomerulus ve tübül epiteli seviyesinde histolojik değişiklikler meydana gelebilir (Teh ve ark. 1997).

Yaptığımız çalışmada balıkların böbreklerinde en fazla gözlenen histopatolojik bulgunun glomeruluslarda meydana gelen atrofi olduğu belirlenmiştir. Meydana gelen atrofiye bağlı olarak Bowman kapsülü ve glomeruluslar arasında kalan boşlukta genişleme tespit edilmiştir. Bernet ve ark. (1999) yaptıkları bir çalışmada balıkların solungaç, böbrek ve karaciğerinde kimyasal maruziyetine bağlı olarak meydana gelen histopatolojik değişimleri sınıflandırmış ve böbreklerde toksik kimyasal maruziyetine bağlı gelişen atrofinin regresif (hücrelerde işlev kaybına bağlı olarak meydana gelen) bir hasar olduğunu bildirmişlerdir. Hadi ve Alwan (2012) ise glomerulus atrofisini interstitiyal maddede fazla miktarda ödemik sıvının birikmesinden kaynaklı hücresel bir dejenerasyon olarak tanımlamışlardır. Bernet ve ark. (1999) böbrek tübüllerinde gözlemlediğimiz hipertrofi ve hiperplazi gibi değişimleri progresif (hücrelerin aşırı faaliyet göstermesinden kaynaklanan) patolojiler olarak sınıflandırmıştır.

Ksenobiyotiklerin canlı dokusunda ve moleküler düzeyde yayılımı, hedef organlarda dejeneratif ve neoplastik hastalıklara neden olan hücre hasarlarına yol açabilir (Pacheco ve Santos 2002). Birçok durumda ileri dejeneratif değişimler dokuların nekrozuyla sonuçlanabilir (Takashima ve Hibiya 1995). Bernet ve ark. (1999), dokularda meydana gelen nekrotik patolojileri en şiddetli regresif değişimler olarak sınıflandırmış ve bu bulgunun hücrelerde geri dönüşümsüz fonksiyon kaybına neden olduğunu rapor etmişlerdir.

Çalışmamızda böbrek dokularında gözlemlemediğimiz proksimal ve distal tübüllerde meydana gelen granüler dejenerasyonda, araştırmacılar hücrelerde bu dejenerasyona bağlı olarak hipertrofi, sitoplazmada küçük granüller, belirsiz hücre sınırları ve tübül içi açıklığında daralma meydana gelebileceğini bildirmişlerdir (Rand 1995, Takashima ve Hibiya 1995). Granüler ve hiyalin dejenerasyonunun, glomeruluslarda fitre edilen sıvıda toksik kimyasalların varlığını gösterdiği düşünülmektedir (Meyers ve Hendricks 1985, Rand 1995). Hiyalin dejenerasyonunda, tübül hücrelerinin sitoplazmalarında düzensiz büyüklükte eozinofilik granüller görünür ve bu granüllerin birikimi hücrenin nekroze olmasıyla sonuçlanabilir (Silva ve Martinez 2007). Bu granüller hücrelerinin içinde sentezlenebilir ya da glomeruluslarda filtre edilen

aşırı miktarda protein kökenli maddenin tekrar absorbe edilmesiyle meydana gelmiş olabilirler (Hinton ve Lauren 1990).

Hücre hasarları, hücre hacmini arttıran ve hücre membranına zarar veren, hücrenin iyon pompasını bozan ve sonuç olarak hücre içine bazı iyonlar (K+), enzimler ve proteinler ile birlikte sodyum, klor, kalsiyum ve su gibi iyonların aşırı miktarda girmesine neden olan hücre içi ATP seviyesinde düşüşe neden olabilir (Silva ve Martinez 2007). Ancak meydana gelen bu değişimler geri dönüşümlü olarak sınıflandırılmıştır (Meyers ve Hendricks 1985, Hinton ve Lauren 1990, Rand 1995, Takashima ve Hibiya 1995). Proksimal ve distal tübüllerde meydana gelen tıkanma, bazı maddelerin tübüllerde birikmesi ya da epitel hücrelerinin şişmesi sonucu meydana gelebilir (Takashima ve Hibiya 1995). Bu tür değişimler, filtrasyon mekanizmasını bozabilir ve tübüllerde reabsorbsiyonu ya da salgılamayı geciktirebilir (Meyers ve Hendricks 1985, Hinton ve Lauren 1990).

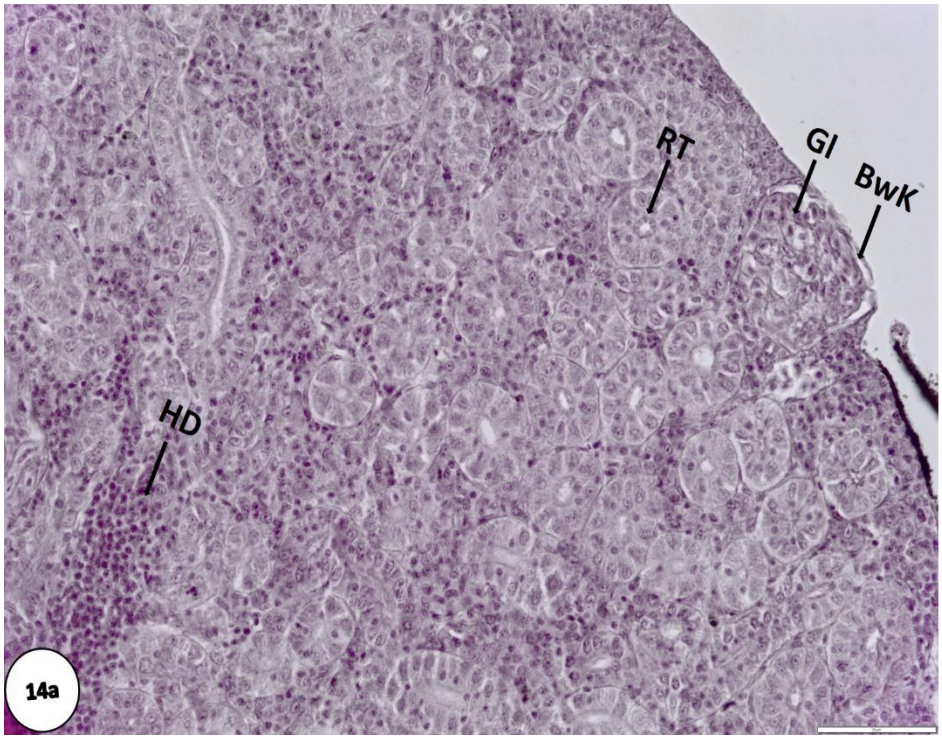
Literatürde pestistlerin balık böbreklerinde meydana getirdiği histopatolojik değiklikler ile ilgili birçok çalışma mevcuttur. Mandal ve Kulshrestha (1980) sumithiona maruz bırakılmış *Clarias batrachus*'ta nefropatolojiyi incelemişlerdir. Pestisit, balığın böbreğinde glomerulus dejenerasyonu ve hücre epitelinde vakuol oluşumu gibi değişiklikler meydana getirmiştir. Elsan uygulanmış *Channa punctatus*'ta glomerulus ve Bowman kapsülünün boyutunda küçülme, tübüllerin düzenini kaybetmesi ve karyolizis gözlenmiştir (Banerjee ve Bhatttacharya 1994). Malathion ve sevin uygulanmış *Cyprinus carpio*'nun renal hücrelerinde hipertrofi, nukleus yapısındaki değişiklikler, vakuol oluşumu, nekroz ve renal elemanlarda dejenerasyon fark edilmiştir (Dhanapakiam ve Premlatha 1994). İnterrenal hücrelerin histolojik özellikleri kronik stresin belirlenmesinde iyi birer indikatördür (Donaldson 1981, Hontela 1998) ve bu hücrelerde belirlenen hipertrofi, bir balık populasyonunun maruz kaldığı kronik stresin değerlendirilmesinde iyi bir araçtır (Norris ve ark. 1997).

Das ve Mukherjee (2000), hekzaklorsiklohekzan uygulanmış *Labeo rohita*'da hücrelerin çekirdeklerinde karyolizis ve karyohekzis ile nekrotik değişiklikler saptamışlardır. Tilak ve ark. (2001), fenvalerate uygulanmış *Ctenopharyngodon idellus*'un böbrek dokularında stoplazmada granüller ve vakuol dejenerasyon, hücresel hipertrofi, renal tübüllerde bulanık şişme ve şiddetli nekroz gözlemişlerdir. Ortiz ve ark.

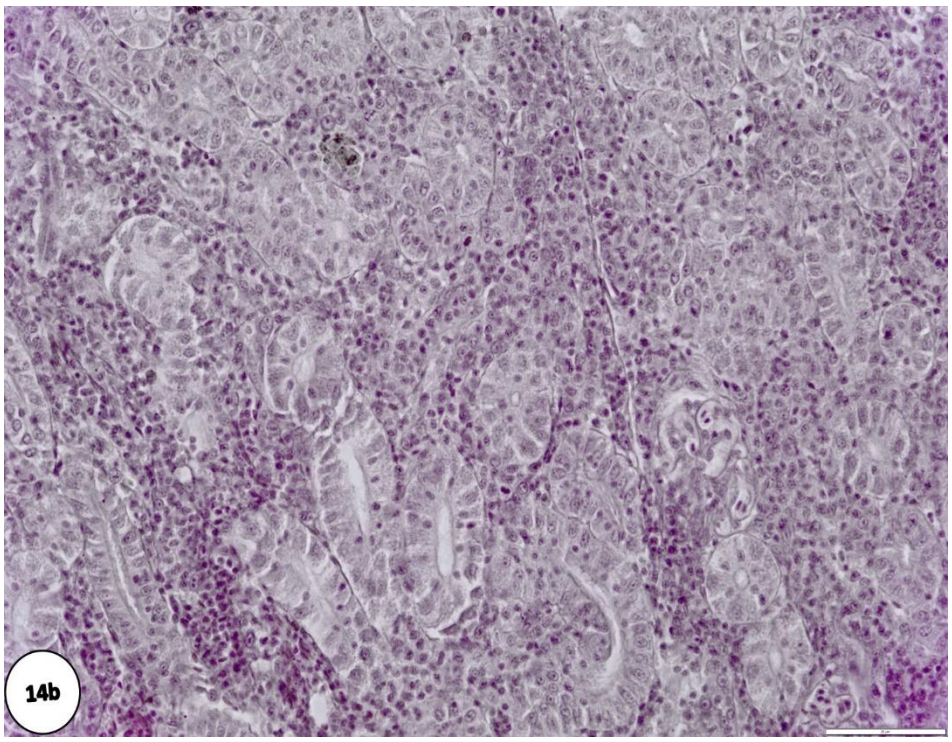
(2003), lindan uygulanmış balığın böbreklerinde tübül epitel hücrelerinde vakuol oluşumu, nekroz ve deskuamasyon rapor etmişlerdir. Cengiz (2006), deltamethrin uygulanmış *Cyprinus carpio* dokularında tübül lümeninde daralma, renal tübül epitel hücrelerinde dejenerasyon, hemapoetik dokuda piknotik çekirdek, glomerular kılcallarda dilatasyon, glomerulus dejenerasyonu, renal tübül epitel hücrelerinin sitoplazmalarında vakuol oluşumu gözlemiştir. Bu bulgular yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz bulgular ile benzerlik göstermektedir.

Velmurugan ve ark. (2007), *Cirrhinus mrigala* bireylerinin dokularında Lambda-cyhalothrin'in etkilerini incelemişler ve bu pestisitin belirli konsantrasyonlarının, 10. günün sonunda böbrek dokularında nekroz, tübül epitel hücrelerinde hidrofik dejenerasyon, tübüler lümende daralma, glomeruluslarda atrofi ve buna bağlı olarak Bowman kapsülü ve glomeruluslar arasında kalan boşlukta genişleme meydana getirdiğini bildirmişlerdir.

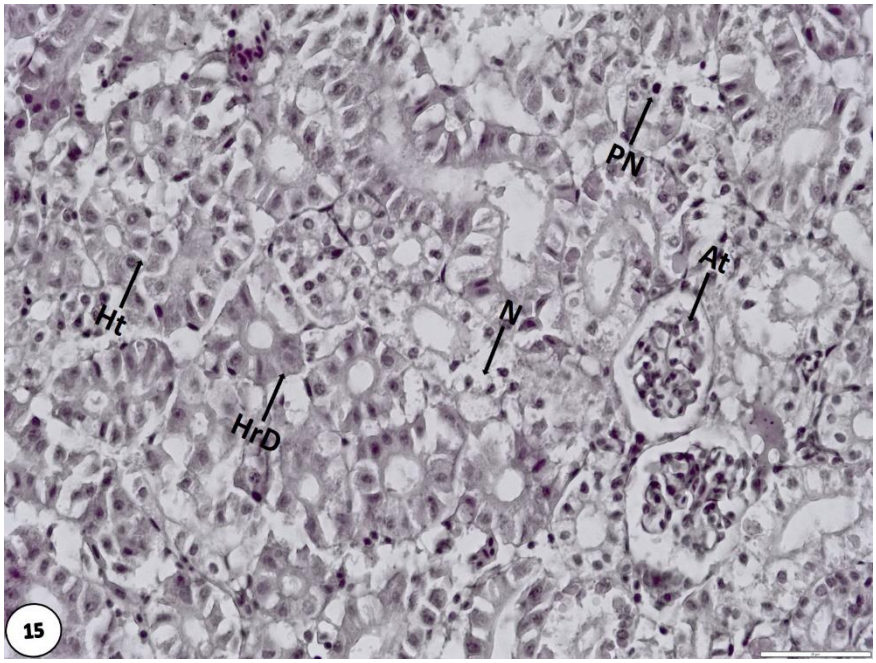
Yapılan bir diğer çalışmada endosulfan ve methiocarbın belirli dozlarına 21 gün boyunca maruz bırakılan *Oncorhynchus mykiss* bireylerinin böbreklerinde hidrofik dejenerasyon, nekroz ve renal tübüler epitelin bağ dokusundan ayrılması patolojileri rapor edilmiştir (Altınok ve Çapkın 2007).



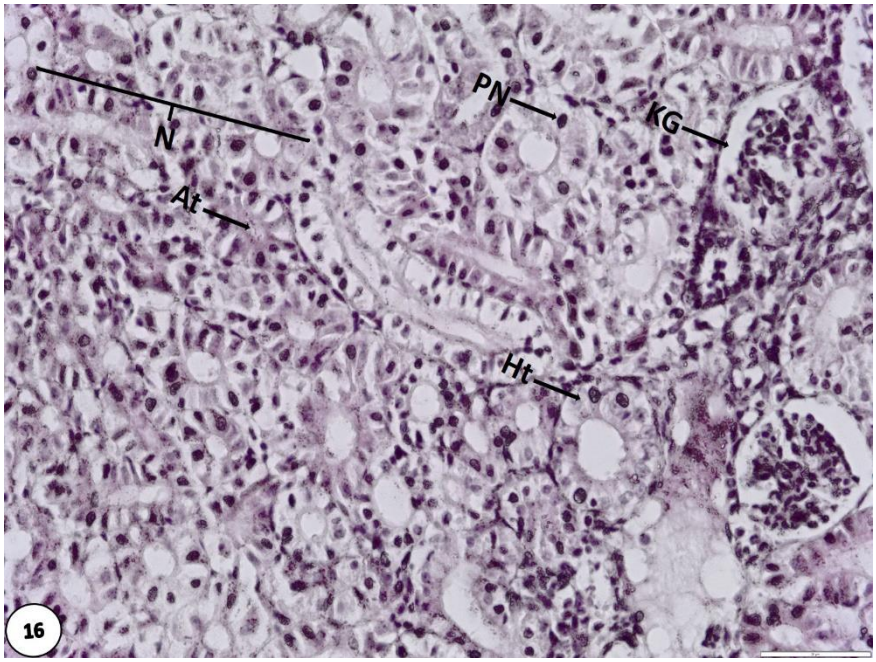
Şekil 4.14a. Kontrol (Grup I) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin böbrek yapısı: glomerulus (Gl), Bowman kapsülü (BwK), renal tübül (RT), hematopoetik doku (HD) (40X) (Hematoksilen-Eosin) (21. Gün).



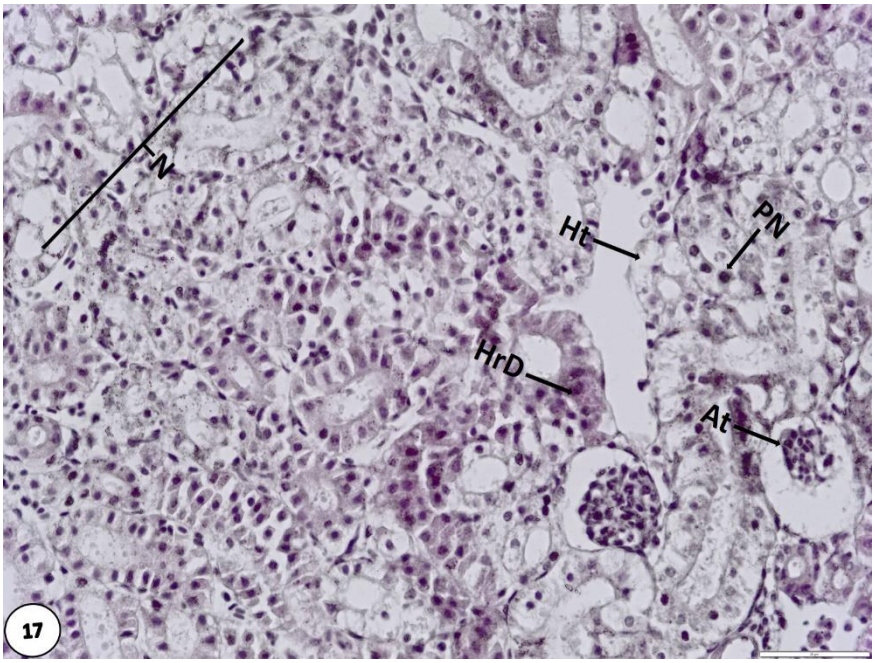
Şekil 4.14b. Aseton kontrol (Grup II) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin böbrek yapısı (40X) (Hematoksilen-Eosin) (21. Gün).



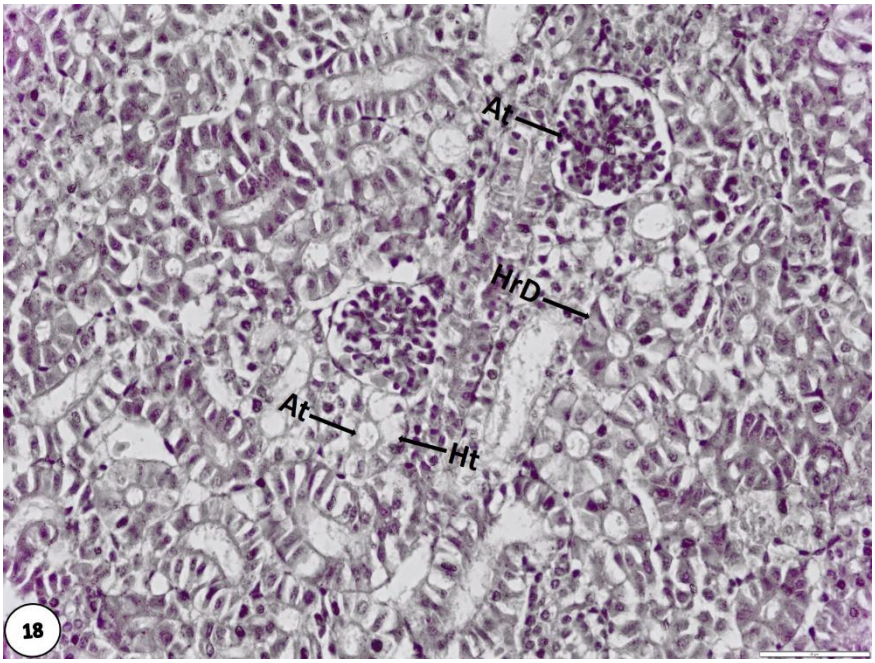
Şekil 4.15. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: glomerulus atrofisi (At), piknotik çekirdek (PN), renal tübül epitelinde nekroz (N), renal tübül epitelinde hidrofik dejenerasyon (HrD) e) renal tübül hücrelerinde hipertrofi (Ht) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



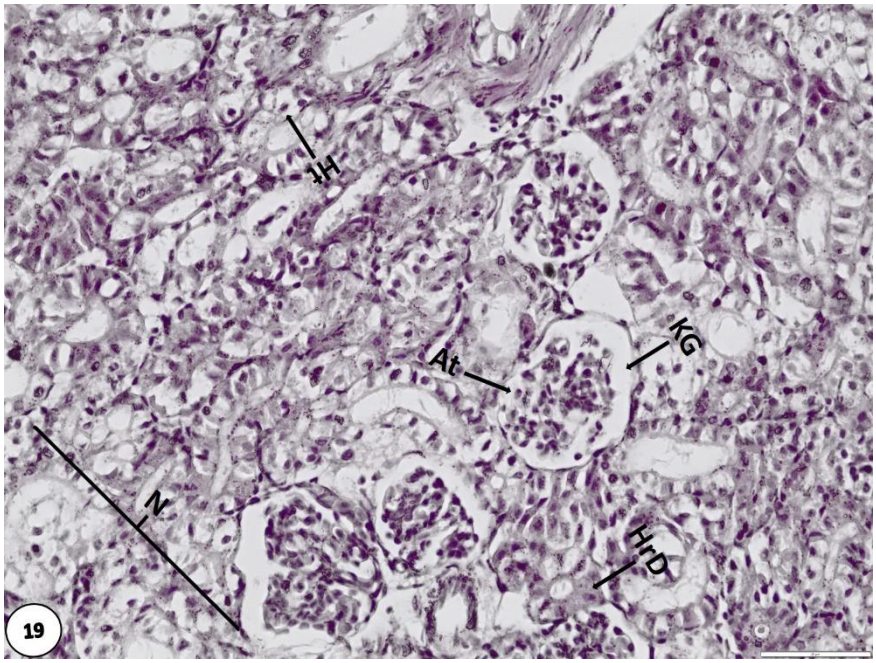
Şekil 4.16. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: glomerulus kapiller boşluğunda genişleme (KG), renal tübül hücrelerinde hipertrofi (Ht), piknotik çekirdek (PN), **r**enal tübül lümeninde atrofi (At), nekroz (N) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



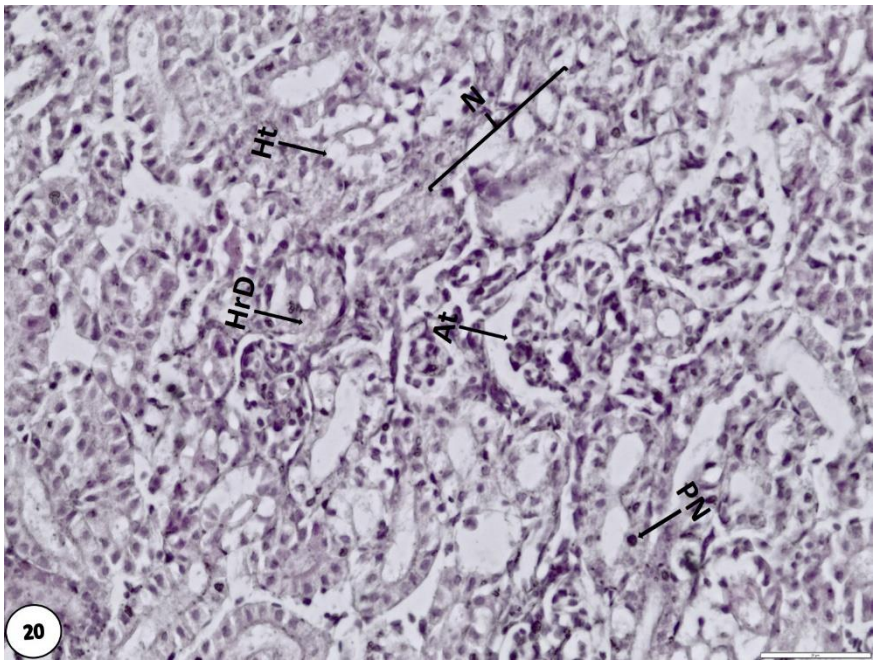
Şekil 4.17. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: glomerulusda atrofi (At), renal tübül epitelinde hipertrofi (Ht), c) renal tübül epitelinde hidrofik dejenerasyon (HrD), piknotik çekirdek (PN), nekroz (N) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



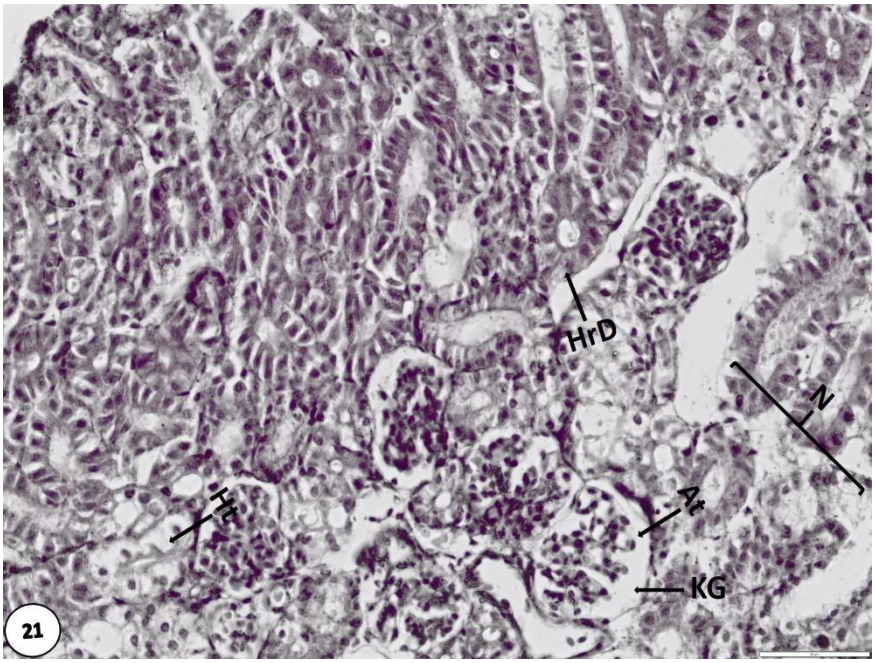
Şekil 4.18. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: glomerulusda hafif atrofi (At), renal tübül epitelinde hipertrofi (Ht), renal tübül epitelinde hidrofik dejenerasyon (HrD), renal tübül lümeninde atrofi (At) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



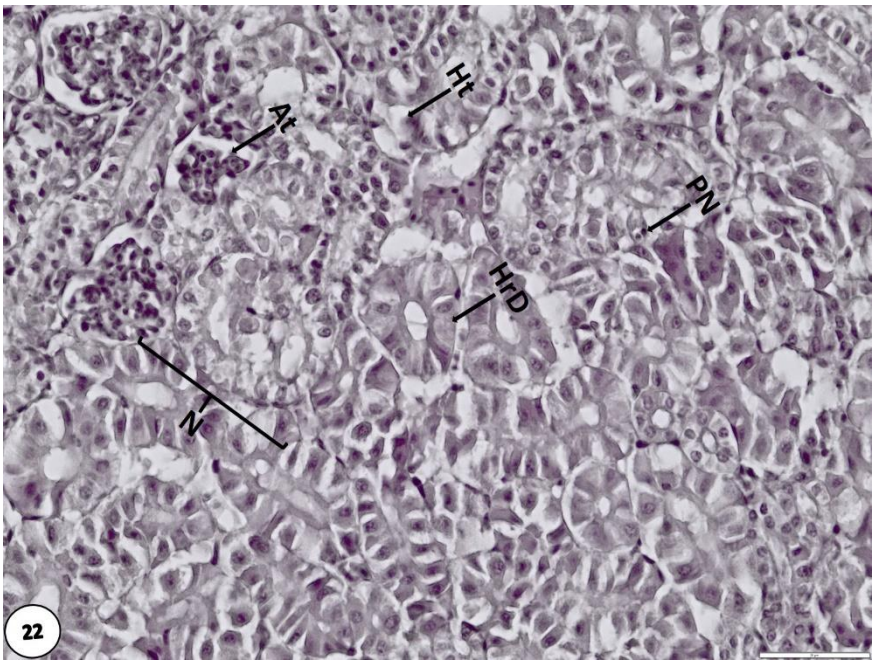
Şekil 4.19. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: glomerulusda atrofi (At), glomerulus kapiler boşluğunda genişleme (KG), renal tübül epitelinde hidrofik dejenerasyon (HrD), piknotik çekirdek (PN), renal tübül epitelinde hipertrofi (Ht), nekroze bölge (N) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



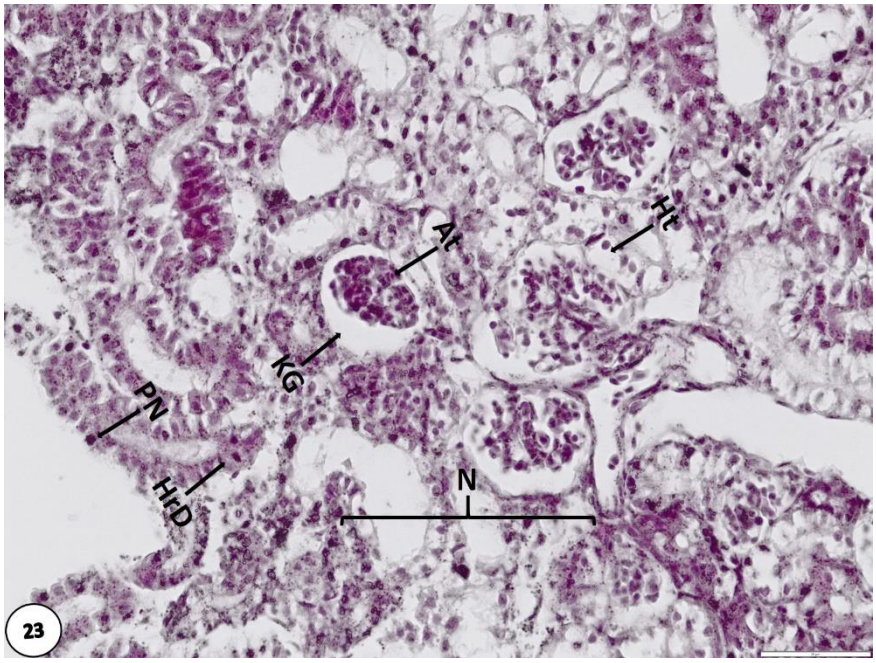
Şekil 4.20. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: piknotik çekirdek (PN), glomerulusda atrofi (At), renal tübül epitelinde hipertrofi (Ht), nekroze bölge (N), renal tübül epitelinde hidrofik dejenerasyon (HrD) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



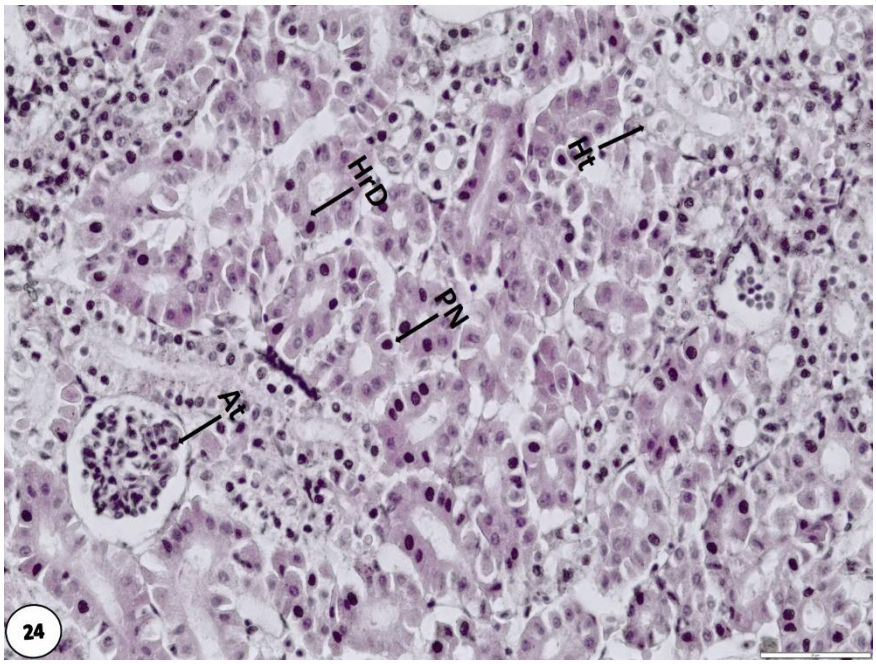
Şekil 4.21. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: glomerulusda atrofi (At), glomerulus kapiler boşluğunda genişleme (KG), nekroze bölge (N), renal tübül epitelinde hidrofik dejenerasyon (HrD), renal tübül epitelinde hipertrofi (Ht) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



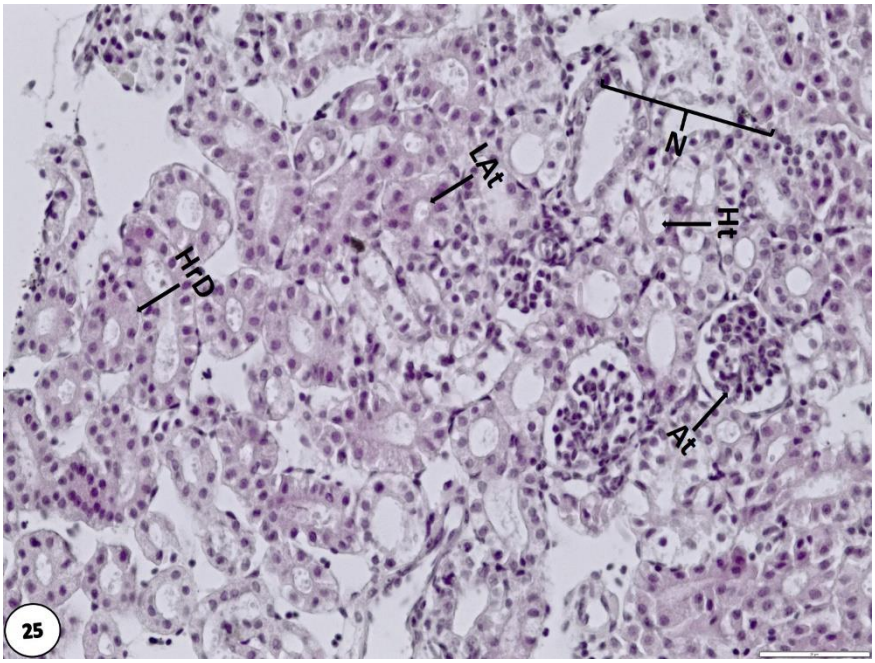
Şekil 4.22. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: glomerulusda atrofi (At), piknotik çekirdek (PN), renal tübül epitelinde hidrofik dejenerasyon (HrD), **r**enal tübül epitelinde hipertrofi (Ht), e) nekroze bölge (N) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



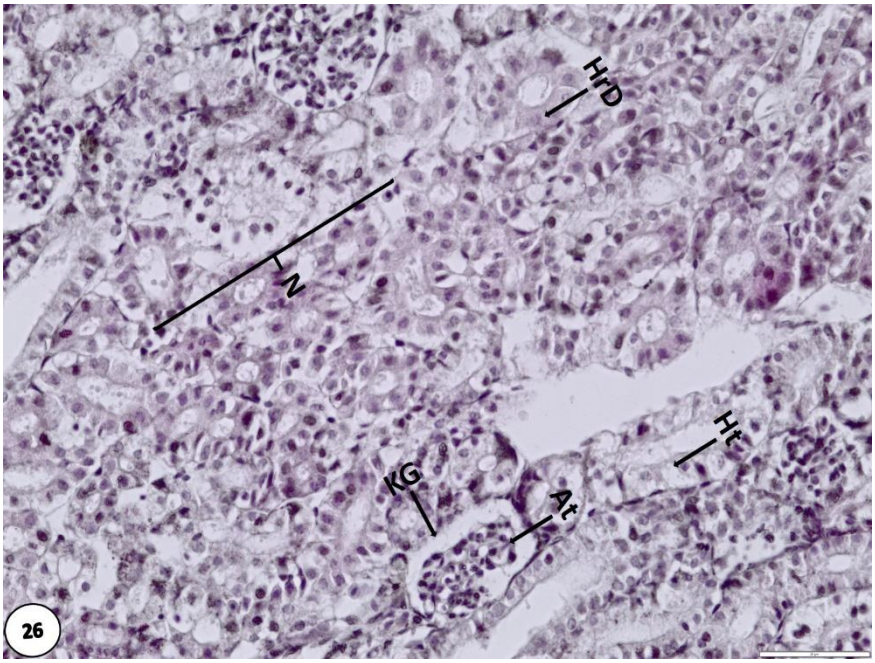
Şekil 4.23. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: glomerulusda atrofi (At), glomerulus kapiler boşluğunda genişleme (KG), piknotik çekirdek (PN), nekroze bölge (N), renal tübül epitel hücresinde hipertrofi (Ht), renal tübül epitel hücresinde hidrofik dejenerasyon (HrD) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



Şekil 4.24. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: glomerulusda atrofi (At), renal tübül hücrelerinde hidrofik dejenerasyon (HrD), piknotik çekirdek (PN), renal tübül hücrelerinde hipertrofi (Ht) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



Şekil 4.25. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: glomerulusda atrofi (At), b) renal tübül lümeninde daralma (LAt), renal tübül epitelinde hidrofik dejenerasyon (HrD), nekroze bölge (N), renal tübül epitel hücresinde hipertrofi (Ht) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



Şekil 4.26. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: glomerulusda atrofi (At), glomerulus kapiler boşluğunda genişleme (KG), renal tübül epitelinde hidrofik dejenerasyon (HrD), nekroze bölge (N), renal tübül epitel hücresinde hipertrofi (Ht) (40X) (Hematoksilen-Eosin).

4.1.3. Karaciğer

Balıklarda karaciğer, sindirim bezlerinden biri olarak görev yapar. Karaciğer hepatik hücrelerden ve bu hücreleri destekleyen sinuzoidlerden oluşmaktadır. Karaciğerin yüzeyi bir dizi membrandan oluşmaktadır. Hepatik arter ve portal toplardamar, karaciğere girer ve bu toplardamar mide ve bağırsaklardan getirdiği kanı taşır. Bu toplardamar karaciğerde küçük kılcal damarlara bölünerek dokunun geniş bir alanına yayılır ve sinüzoidleri meydana getirir. Aynı zamanda karaciğerde safra sentezlenir.

Yürüttüğümüz çalışmada 21 gün boyunca kontrol (Grup I) ve aseton kontrol (Grup II) gruplarında bulunan *O. niloticus* bireylerinin karaciğer dokusunda herhangi bir histopatolojik değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4. 27a ve 27b).

4.1.3.1. Carbaryl Grubunda (Grup III) Belirlenen Histopatolojik Bulgular

850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan canlıların 7. günün sonunda karaciğerlerinde hepatositlerde hidrofik dejenerasyon, piknozis ve hipertrofi gözlenmiştir (Şekil 4.28).

14 gün boyunca 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan canlıların karaciğer dokularında meydana gelen histopatolojik değişikliklerin şiddeti zamana bağlı olarak artmıştır. 14. günde *O. niloticus* bireylerinin karaciğer dokularında piknotik çekirdeklerin sayısı artmıştır, hepatositlerde hipertrofi şiddeti artmıştır, granüler dejenerasyon kaydedilmiştir ve sinüzoidlerde bozulma belirlenmiştir (Şekil 4.29).

En dramatik değişiklikler Carbaryl maruziyetinin en uzun süre olduğu 21. günde gözlenmiştir. 21 gün sonunda karaciğer dokusunda nekroz göze çarpmaktadır. Bu nekrozun muhtemel yağ dejenerasyonu sonucu olabileceği düşünülmektedir. Aynı zamanda sinüzoidlerde pıhtılaşma ve buna bağlı olarak tıkanma meydana gelmiştir. Hepatositlerde hidrofik dejenerasyon, piknotik çekirdek sayısı artmıştır ve granüler dejenerasyon devam etmiştir (Şekil 4.30).

4.1.3.2. Diazinon Grubunda (Grup IV) Belirlenen Histopatolojik Bulgular

280 µg/L Diazinon'a, 7 gün süre ile maruz kalan balıkların karaciğer dokusunda hidrofik dejenerasyon, az sayıda piknozis, vakuolizasyon ve hepatositlerde hipertrofi gözlenmiştir (Şekil 4.31).

14 günün sonunda dokulardaki histopatolojik değişikliklerin şiddeti pestisit maruziyetinin artmasına paralel olarak artmıştır. Bu dönemde balıkların karaciğerde nekrozun öncül belirtisi olan piknotik çekirdekli hücre sayısı artmış ve granüler dejenerasyon hepatositlerin geneline yayılmıştır. Muhtemel yağ dejenerasyonuna bağlı hepatositlerin yapısal değişimi gözlenmiştir. Hepatosit hipertrofisi ve vakuolizasyon sıklığı artmıştır. Sirkülasyonun bozulmasına bağlı olarak sinüzoidlerde dilatasyon ve buna bağlı olarak tıkanma tespit edilmiştir (Şekil 4.32).

21 günün sonunda karaciğerde en fazla göze çarpan histopatolojik değişiklik nekroze bölgelerin tüm dokuya yayılmış olmasıdır. Piknotik çekirdek sayısı en fazladır. Hepatositlerde hipertrofi tüm dokuya yayılmıştır ve sinüzoidlerde deformasyon göze çarpmaktadır (Şekil 4.33).

4.1.3.3. Lambda-cyhalothrin Grubunda (Grup V) Belirlenen Histopatolojik Bulgular

0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğer dokularında 7. günün sonunda hidrofik dejenerasyon, hepatositlerde hipertrofi, az sayıda piknozis ve nekroz gözlenmiştir (Şekil 4.34). Bu kimyasalın aynı süre zarfında diğer pestisitlere göre daha fazla etki gösterdiği gözlenmiştir.

14 günün sonunda Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan canlıların karaciğer dokusunda, nekroze bölgelerin ve piknotik çekirdeklerin sayısı artmıştır. Buna paralel olarak hidrofik dejenerasyon, hipertrofi sayılarında artış olduğu ve granüler dejenerasyon kaydedilmiştir (Şekil 4.35).

21. günde karaciğer dokularında meydana gelen histopatolojik değişikliklerin şiddeti artmıştır. 21 gün sonunda nekroz, karaciğer dokusunun geniş bir alanına yayılmıştır. Hipertrofi ve piknotik çekirdek sayısında artış meydana gelmiştir. Ayrıca karaciğer hepatositlerinde yağ dejenerasyonuna bağlı olduğu düşünülen yapısal bozukluklar, yaygın dilatasyon gözlenmiştir (Şekil 4.36).

4.1.3.4. Atrazin Grubunda (Grup VI) Belirlenen Histopatolojik Bulgular

0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğer dokularında 7. günün sonunda az sayıda piknotik çekirdek, granüler dejenerasyon ve vakuolizasyon gözlenmiştir (Şekil 4.37).

14 günün sonunda karaciğer dokularında pestisit maruziyetine bağlı olarak meydana gelen histopatolojik değişikliklerin şiddetinin arttığı gözlenmiştir. Bu dönemde balıkların karaciğerinde piknosiz devam ederken bu patolojinin sıklığı artmıştır. Hepatositlerde hipertrofi ve vakuolizasyon göze çarparken, granüler dejenerasyon hepatositlerin çoğu bölgesine yayılmıştır. Kan sirkülasyonunun bozulmasına bağlı sinüzoidlerde kan pıhtılaşması ve buna bağlı olarak sinüzoidlerde tıkanma meydana gelmiştir (Şekil 4.38).

Atrazin'e maruz bırakılan canlıların karaciğerinde meydana gelen en şiddetli histopatolojik değişiklikler, 21. günün sonunda nekroz olarak gözlenmiştir. Piknotik çekirdekler tüm hepatositlerde görülmektedir. Hipertrofi tüm dokuya yayılmıştır (Şekil 4.39).

Balık organlarının, özellikle karaciğerin, histolojik incelemesi balıklarda organik kirleticilere bağlı meydana gelen etkilerin belirlenmesinde önemli birer araç olduğu birçok defa kanıtlanmıştır (Cengiz ve Unlu 2006). Bu durum balıklarda karaciğerin pestisitlerin biyotransformasyonundaki temel organ olmasından kaynaklanmaktadır.

Karaciğere dışardan yabancı herhangi bir madde girdiğinde, karaciğerin detoksifiye edici özelliğinden dolayı asıl maddeden bir takım ara ürünler oluşmaktadır. Meydana gelen bu ürünlerin kovalent bağ ile karaciğer proteinlerine bağlandığı ve %90 oranında proteinlerin fonksiyonlarını inhibe ettiği belirtilmektedir (Dansette 1991). Hücreye giren reaktif ara ürünler; hücre zarında hasar meydana getirerek hücre ölümlerine neden olmaktadır. Hücre zarında tahribat sonucu meydana gelen hücre ölümlerinde, nekroz olarak adlandırılan patolojik durum meydana gelmektedir.

Nekroza uğrayan hücrelerin nukleuslarında da birtakım değişiklikler gözlenir. Kromatin yoğunlaşır (piknozis) ve kırılır (karyohekzis). Bazı durumlarda ise nukleus basit bir şekilde solar ve çözülür (karyolizis). Çalışmada, nukleuslarda piknotik durum saptanmıştır. Hepatosit nukleuslarında piknozun görülmesi, karaciğer dokusunda bir tahribatın meydana geldiğinin belirtisidir. Bu değişiklikler endosulfan uygulanan balık türlerinin nukleuslarında da saptanmıştır (Nowak 1996, Cengiz ve ark. 2001).

Pestisitlere maruz bırakılan balıklarda, en yaygın bir şekilde karşılaşılan karaciğer lezyonu, lipitlerin anormal birikiminin sonucu meydana gelen yağ dejenerasyonudur. Yağ akümülasyonu, toksik bileşiklere en yaygın bir hücresel yanıttır. Genellikle trigliseritler

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

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

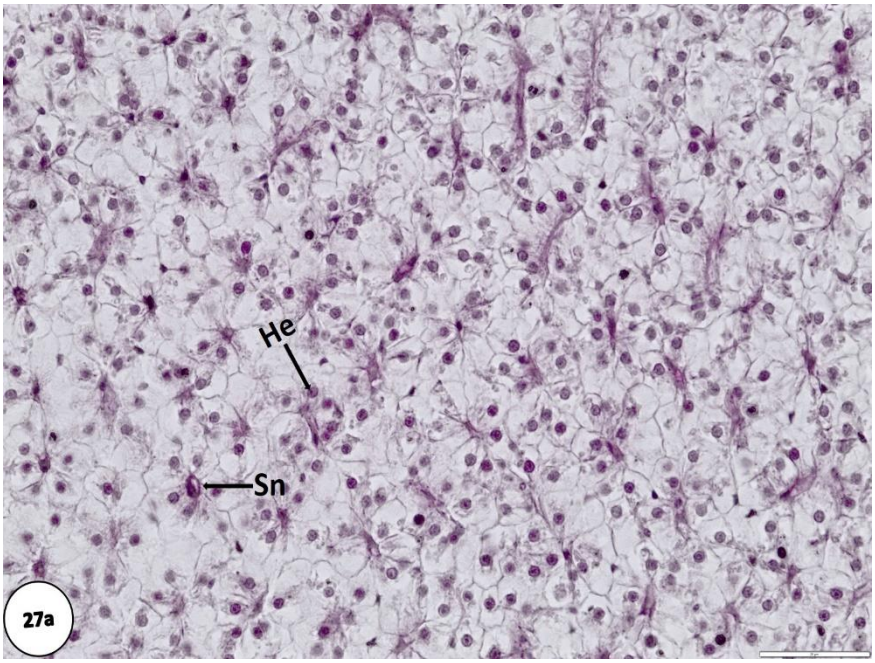
Karaciğerdeki yağ infiltrasyonu, pestisitlere maruz bırakılan balıklarda çok yaygın bir oluşum olup pestisitlerin hücre membranından hızlı geçişine büyük bir nedendir (Reddy ve Rao 1989).

Karaciğer toksik maddeler için başlıca detoksifikasyon yeri olmasından dolayı, birçok hücresel ve yapısal değişikliklerin de olması olasıdır. Karaciğerde gözlenen histopatolojik değişiklikler, pestisit biyodegredasyonu ve pestisit metabolizması için sorumlu olan enzimlerin stimülasyon ve indüksiyonunun karaciğerde olmasından kaynaklanmaktadır. Bu gibi histopatolojik değişiklikler, karaciğerin fonksiyonel yeteneğinde bir azalmaya yol açabileceği gibi, birçok organ sisteminin işleyişini de etkileyebilir. Sarkar ve ark. (2005), cypermethrin ve carbofuran uygulanmış *Labeo rohita*'da nekroz, hiperplazi, sinüzoidlerde tıkanma, kordal düzensizlikler, nüklear dejenerasyon gözlemişlerdir. Uygulama sonrası temiz suya bırakılan balıklarda iyileşme sürecinde ise normale geri dönmek için uzun bir süreç gerekli olduğu için tamamen iyileşme gözlememişlerdir.

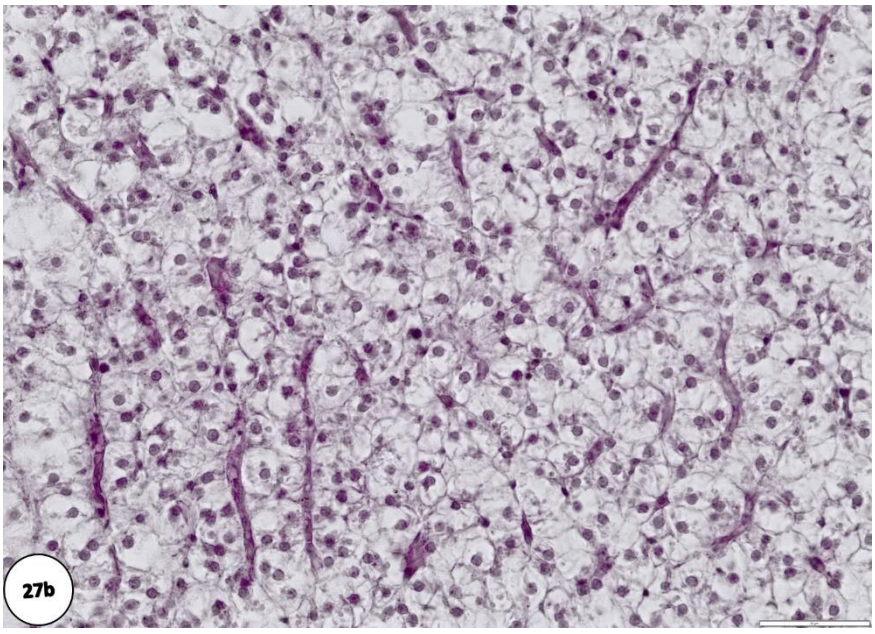
Birçok araştırmacı karaciğer histopatolojisini çeşitli kirletici için güvenilir bir biyobelirteç olarak kullanmıştır (Marchand ve ark. 2009, Reddy ve Baghel 2012, Deore ve Wagh 2012). Karaciğerde meydana gelen histopatolojik lezyonların belli bir kirleticiye özgü olmadığı bildirilmiştir (Reddy ve Rawat 2013). Mesela, organik kirleticilere ve pestisitlere maruziyet karaciğerde; hücresel değişimler, megalositik heptoz, hepatoselülar

nükleer polimorfizim, hidrofik vakuolizasyon, spesifik olmayan proliferatif lezyonlar ve spesifik olmayan nekrotik lezyonlar gibi histopatolojik değişimleri arttırdığı rapor edilmiştir (Myers ve ark. 1993). Fanta ve ark. (2003), organofosfat bir pestisite maruz bırakılan *Corydoras paleatus* karaciğerinde; düzensiz şekilli hepatosit, sitoplazmik vakuolizasyon ve lateral pozisyonlu nukleus gibi anormallikler tespit etmiştir. Reddy ve Baghel (2010), Reddy ve Baghel (2012), endüstriyel bir kirleticiye maruz bırakılan balıkların karaciğer dokularında dejenerasyon ve fokal nekroz meydana geldiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmalar, karaciğerde meydana gelen spesifik bir histopatolojik değişimin tek bir toksik maddeye özgü olmadığını ve herhangi bir kirlenmede balıkların karaciğer hücrelerinin kirleticiye karşı çeşitli şekillerde yanıt verdiğini göstermiştir.

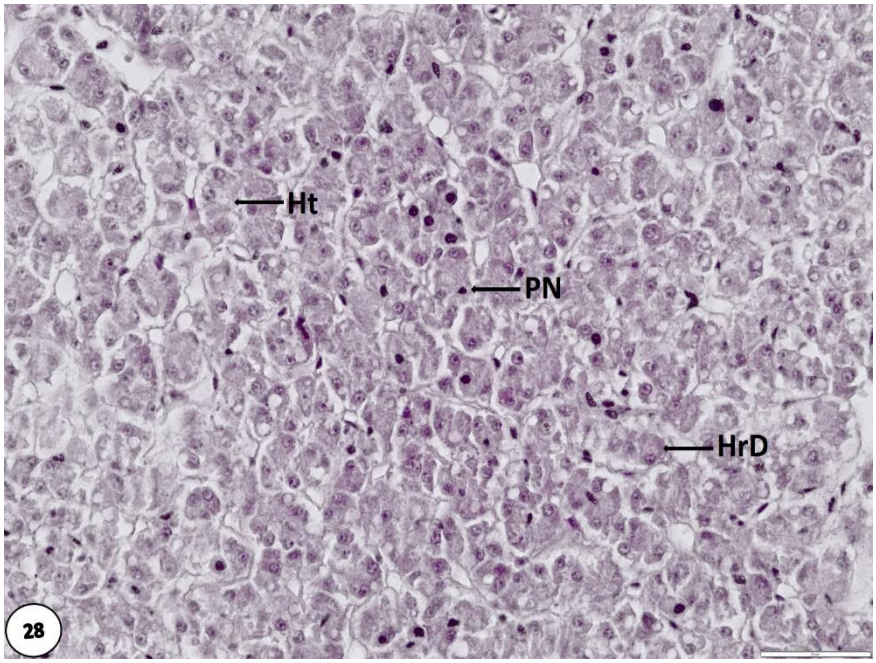
Yapılan bir çalışmada fenvelarate isimli piretroid bir insektiste maruz bırakılan *Clarias gariepinus* bireylerinin karaciğer dokusunda hepatoselüler sitoplazmik vakuolizasyon, lökosit infiltrasyonu, kan pıhtılaşmasına bağlı nekroz ve yağ dejenerasyonu meydana geldiği tespit edilmiştir (Sakr ve ark. 2001). Benzer değişimler meyve bahçelerinden taşan sel suları yüzünden kirlenen bir nehirde bulunan *Sarcamento splittail* bireylerinin 7 günlük larvalarının karaciğer dokuları için de rapor edilmiştir (Teh ve ark. 2005). Fakat, kirlenme maruziyeti için karaciğer histopatolojisini bir biyobelirteç olarak kullanmak yeterince uygun bir araç olmayabilir çünkü karaciğer dokularını, histopatolojik bulguları belirlemek için, hazırlamak zaman alan bir yöntemdir ve bir toksik kimyasalın etkisini tam olarak belirlemek için, bu yöntemin yanı sıra, hematolojik verilerin de kullanılması gerekmektedir.



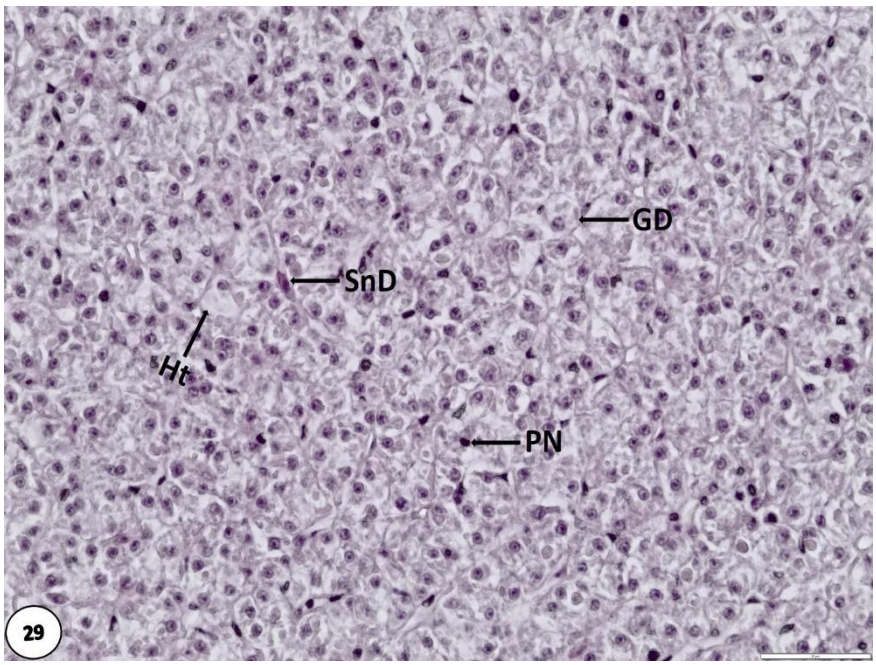
Şekil 4.27a. Kontrol (Grup I) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin karaciğer yapısı: hepatosit (He), sinüzoid (Sn)(40X) (Hematoksilen-Eosin) (21. Gün).



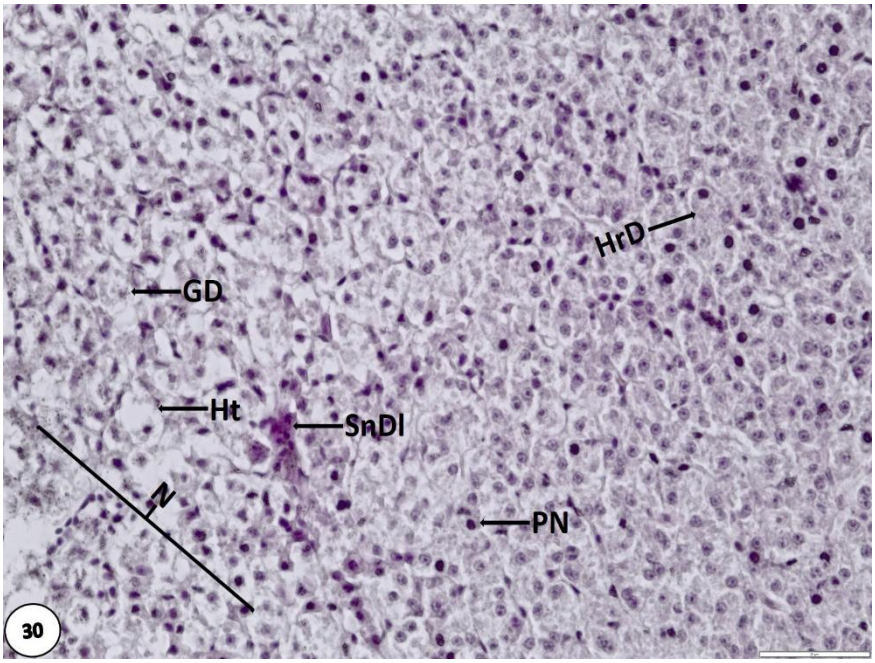
Şekil 4.27b. Aseton kontrol (Grup II) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin karaciğer yapısı: hepatosit (He), sinüzoid (Sn)(40X) (Hematoksilen-Eosin) (21. Gün).



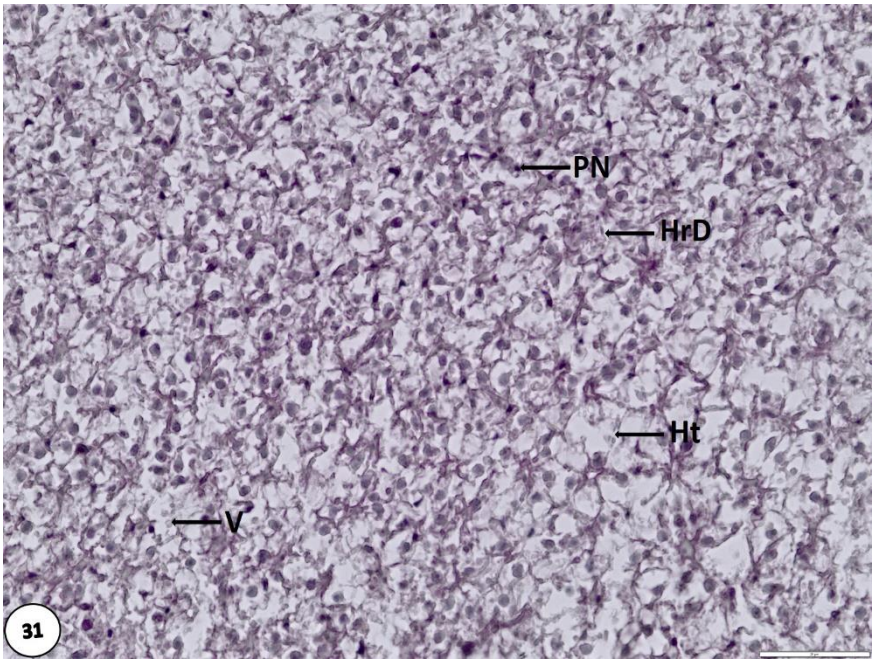
Şekil 4.28. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: hepatositlerde hidrofilik dejenerasyon (Ht), piknotik çekirdek (PN), hepatositlerde hipertrofi (Ht) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



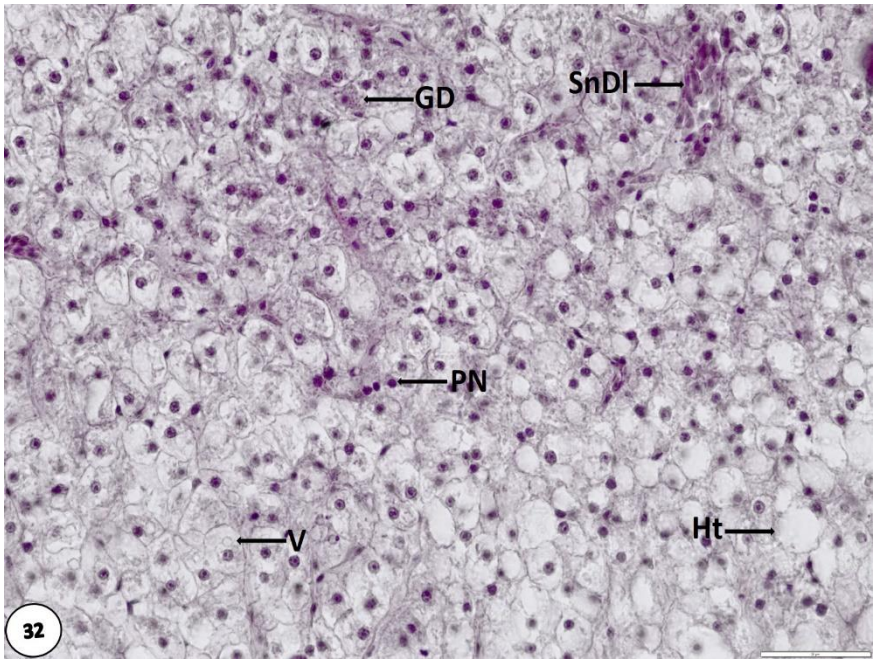
Şekil 4.29. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: hepatositlerde hipertrofi (Ht), hepatositlerde granüler dejenerasyon (GD), piknotik çekirdek (PN), sinüzoid deformasyonu (SnD) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



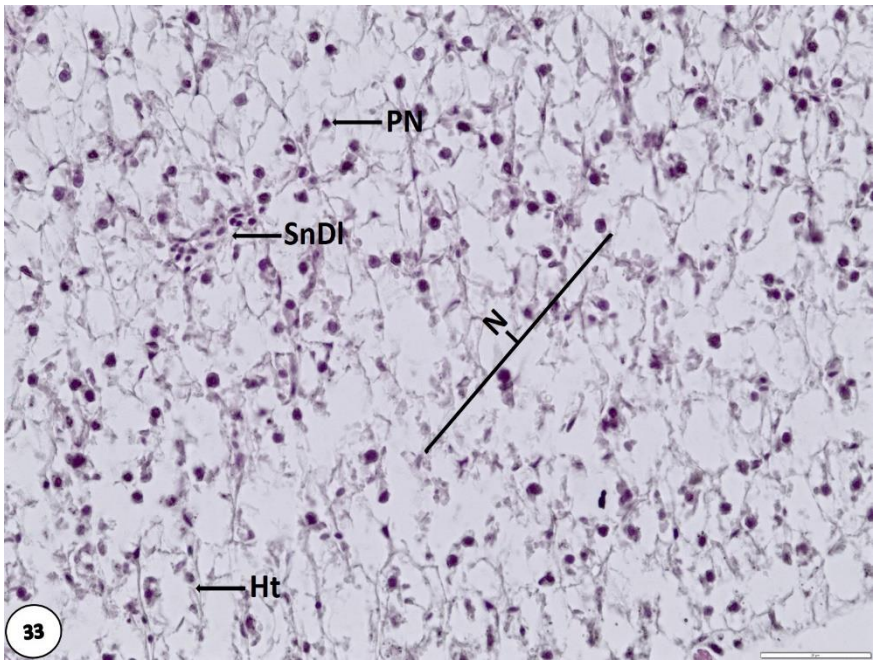
Şekil 4.30. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: piknotik çekirdek (PN), sinüzoidde dilatasyon (SnDl), granüler dejenerasyon (GD), hepatositlerde hipertrofi (Ht), nekroze bölge (N), hidrofilik dejenerasyon (HrD) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



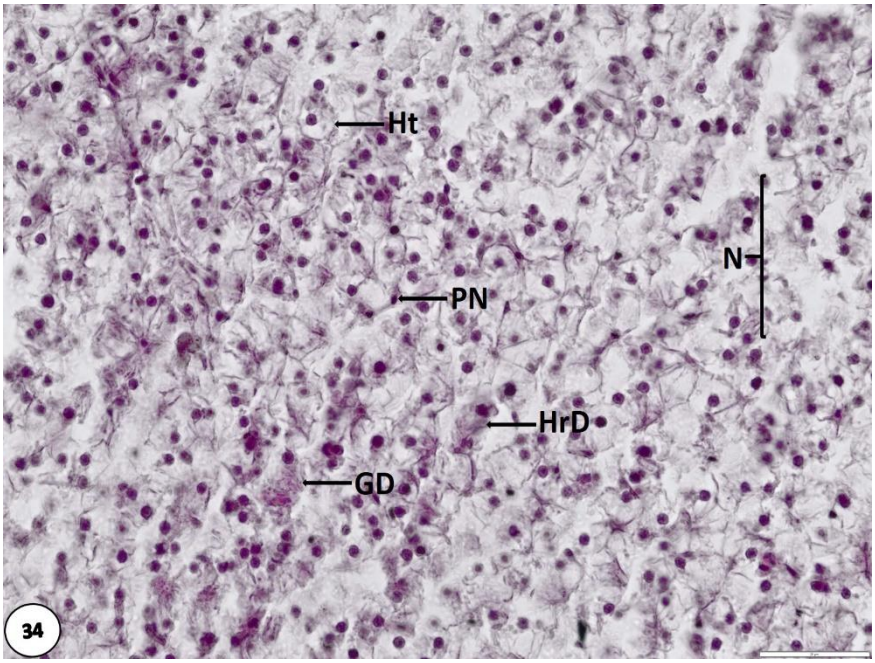
Şekil 4.31. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: hepatositlerde hipertrofi (Ht), hepatositlerde hidrofik dejenerasyon (HrD), vakuolizasyon (V), piknotik çekirdek (PN) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



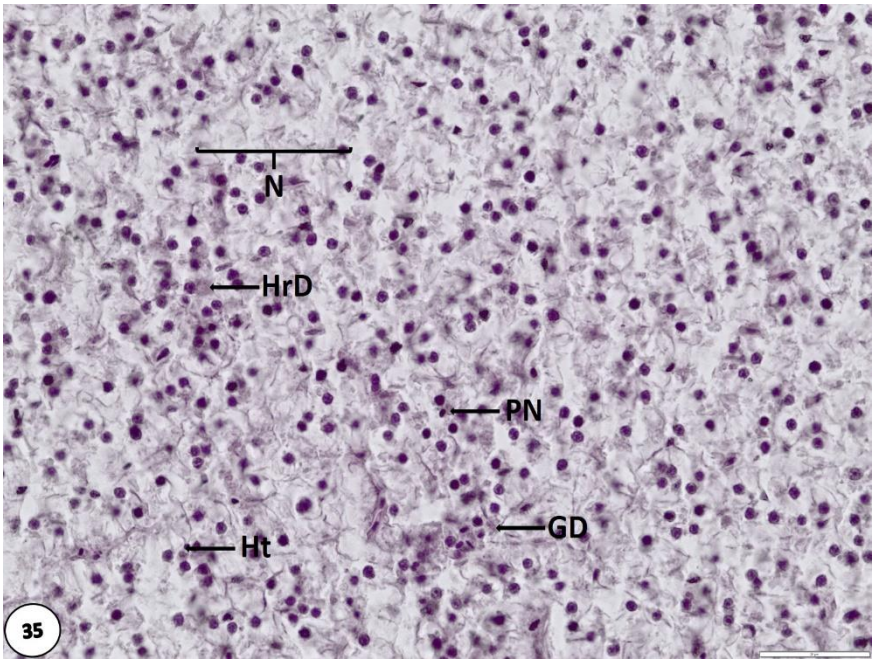
Şekil 4.32. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: hepatositlerde hipertrofi (Ht), hepatositlerde vakuolizasyon (V), sinüzoidlerde dilatasyon (SnDl), granüler dejenerasyon (GD), piknotik çekirdek (PN) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



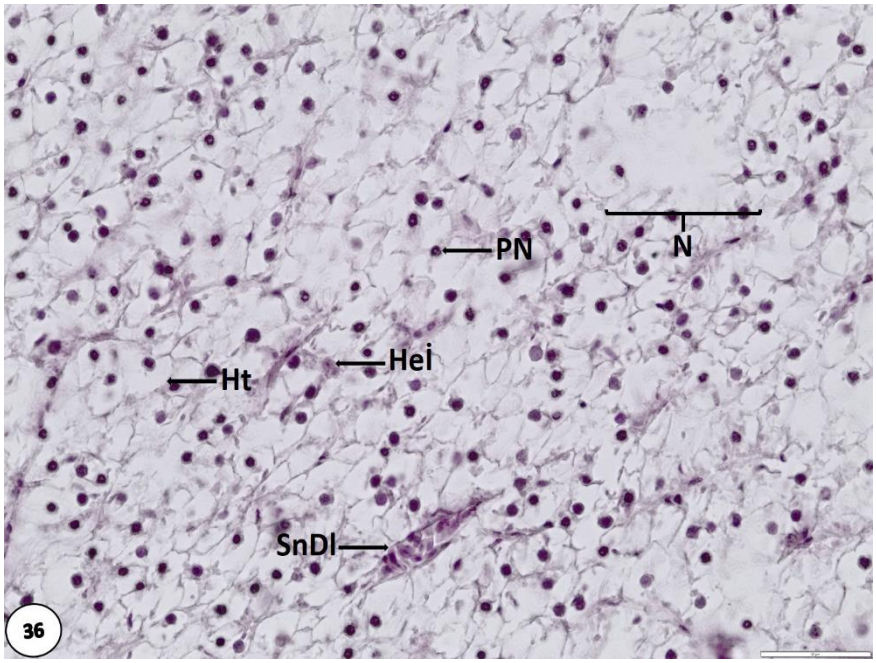
Şekil 4.33. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: nekroze bölge (N), piknotik çekirdek (PN), sinüzoidde dilatasyon (SnDl), hepatositlerde hipertrofi (Ht) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



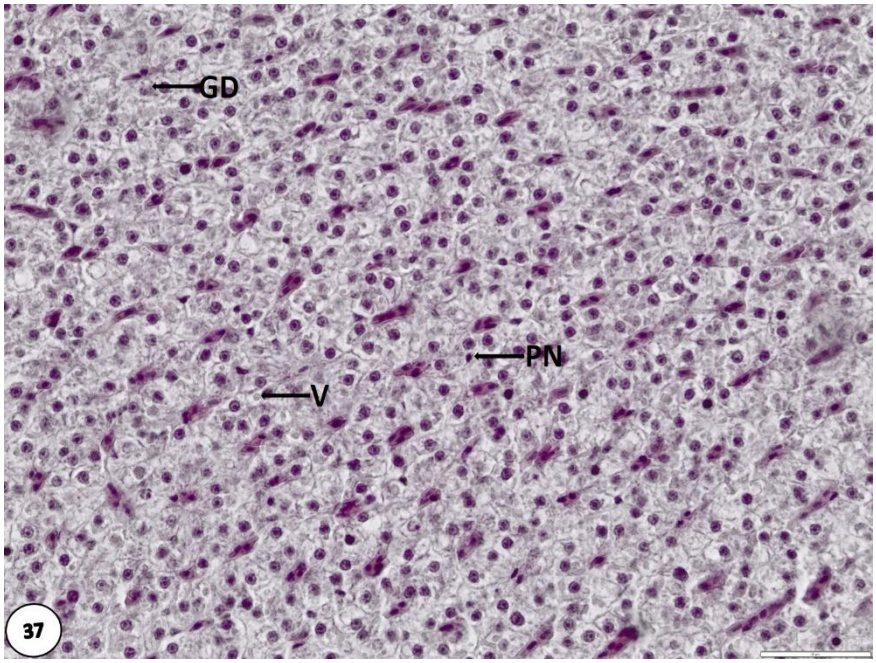
Şekil 4.34. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: hepatositlerde hidrofilik dejenerasyon (HrD), piknotik çekirdek (PN), nekroz (N), hepatositlerde hipertrofi (Ht), hepatositlerde granüler dejenerasyon (GD) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



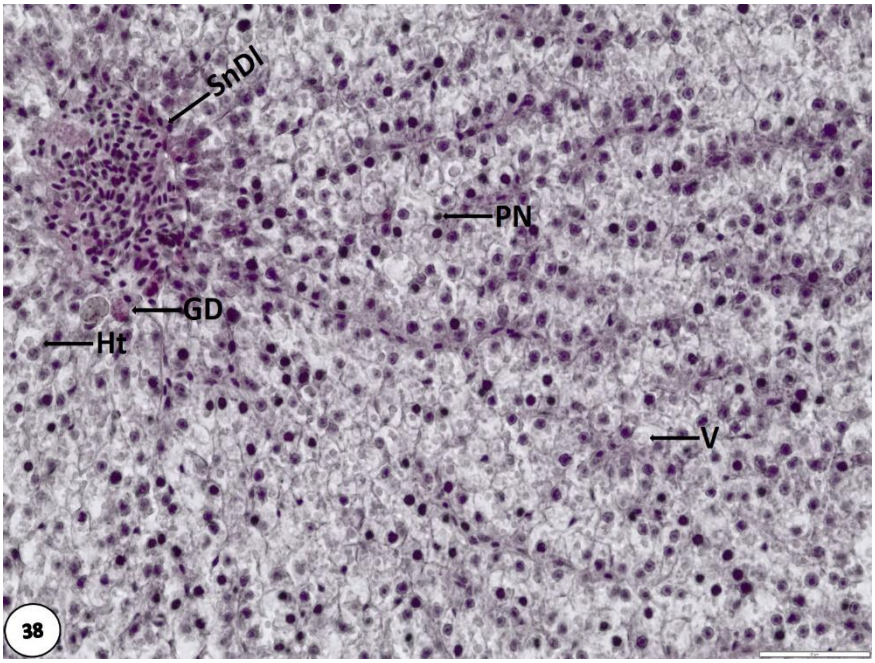
Şekil 4.35. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: piknotik çekirdek (PN), hepatositlerde granüler dejenerasyon (GD), hepatositlerde hipertrofi (Ht), nekroz (N), hepatositlerde hidrofik dejenerasyon (HrD) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



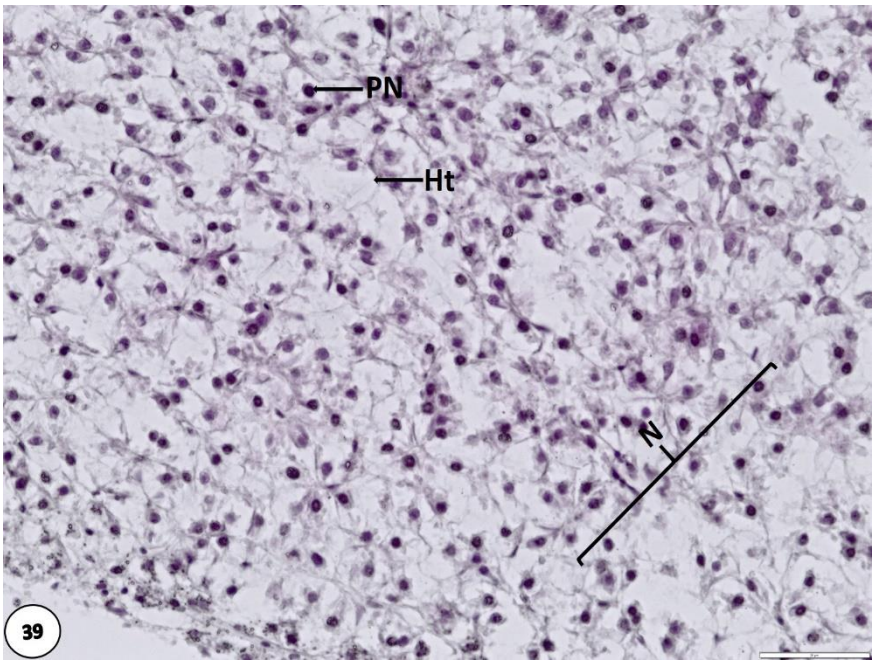
Şekil 4.36. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: piknotik çekirdek (PN), sinüzoidde dilatasyon (SnDl), hemostatik infiltrasyon (Heİ), nekroze bölge (N), hepatositlerde hipertrofi (Ht) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



Şekil 4.37. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: piknotik çekirdek (PN), hepatositlerde granüler dejenerasyon (GD), hepatositlerde vakuolizasyon (V) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



Şekil 4.38. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: piknotik çekirdek (PN), sinüzoidlerde dilatasyon (SnDl), hepatositlerde granüler dejenerasyon (GD), hepatositlerde vakuolizasyon (V), hepatositlerde hipertrofi (Ht) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



Şekil 4.39. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerlerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: hepatositlerde hipertrofi (Ht), piknotik çekirdek (PN), nekroze bölge (N) (40X) (Hematoksilen-Eosin).

4.1.4. Gonadlar

Yüksek omurgalılarda spermatogenezis seminifer tübüllerinde gerçekleşmektedir. Seminifer tübülleri testisin ana yapısını oluşturur ve spermatozoa küçük bir sperm kanalından geçerek üregenital açıklıktan dışarı bırakılırlar. Balıkların testis yapısı genellikle buna benzer ancak bu yapı seminifer tübülünün olup olmamasına göre değişir. *O. niloticus'* da seminifer tübülü bulunmaktadır.

Yürüttüğümüz çalışmada 21 gün boyunca kontrol (Grup I) ve aseton kontrol (Grup II) gruplarında bulunan *O. niloticus* bireylerinin gonad dokusunda herhangi bir histopatolojik değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4.40a ve 4.40b).

4.1.4.1. Carbaryl Grubunda (Grup III) Belirlenen Histopatolojik Bulgular

850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan canlıların 7. günün sonunda olgunlaşmış testislerinde spermatogonyumlarda ve Leydig hücrelerinde hidrofik dejenerasyon ve hiperplazi gözlenmiştir. Spermatogoniumların çekirdeklerinde piknozis ve seminifer tübüllerinde genişleme gözlenmiştir (Şekil 4.41).

14 gün boyunca 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan canlıların olgunlaşmış testis dokularında meydana gelen histopatolojik değişikliklerin şiddeti zamana bağlı olarak artmıştır. 14. günde *O. niloticus* bireylerinin testis dokularında piknotik spermatogonyumların sayısı artmıştır ve piknotik Sertoli hücreleri belirlenmiştir, aynı zamanda hipertrofi şiddeti ve hidrofik dejenerasyon sıklığı artmıştır (Şekil 4.42).

En şiddetli değişiklikler, Carbaryl maruziyetinin en uzun süre olduğu 21. günde gözlenmiştir. 21 gün sonunda testis dokusunda nekroz göze çarpmaktadır. Nekroz sonucu seminifer tübüllerinin bütünlüğü bozulmuştur ve tübül epiteli bağ dokudan ayrılmıştır (Şekil 4.43). Ayrıca spermatozoa sayısında belirgin bir azalış kaydedilmiştir.

4.1.4.2. Diazinon Grubunda (Grup IV) Belirlenen Histopatolojik Bulgular

280 µg/L Diazinon kosantrasyonuna 7 gün süre ile maruz kalan balıkların testis dokusundas permatogonyumlarda hidrofik dejenerasyon, az sayıda piknozis, hipertrofi ve seminifer tübüllerinde genişleme gözlenmiştir (Şekil 4.44).

14 günün sonunda dokulardaki histopatolojik değişikliklerin şiddeti pestisit maruziyetinin artmasına paralel olarak artmıştır. Bu dönemde balıkların testis dokusunda nekroze bölgeler görülmeye başlanmıştır. Nekrozun öncül belirtisi olan piknotik

çekirdekli hücre sayısı artmış ve hidrofik dejenerasyon spermatagonyumların geneline yayılmıştır. Leydig hücrelerinde, spermatagonyumlarda hipertrofi ve granüler dejenerasyon gözlemiştir (Şekil 4.45).

21 günün sonunda testislerde en fazla göze çarpan histopatolojik değişiklik nekroze bölgelerdir. Piknotik çekirdek sayısı en fazladır. Spermatagonyumlarda şiddetli hipertrofi gözlenmiştir. Spermatagonyumlarada hidrofik dejenerasyon ve Sertoli hücrelerinde piknozis gözlenmiştir. Spermatozoa sayısında azalma kaydedilmiştir (Şekil 4.46).

4.1.4.3. Lambda-cyhalothrin Grubunda (Grup V) Belirlenen Histopatolojik Bulgular

0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testis dokularında 7. günün sonunda spermatogonyumlarda çok fazla sayıda hidrofik dejenerasyonye rastlanmıştır. Buna bağlı olarak hipertrofi gözlenmiştir, az sayıda piknozis belirlenmiştir (Şekil 4.47).

14 günün sonunda Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan canlıların testis dokusunda nekroze bölgelerin ve piknotik çekirdeklerin sayısı artmıştır. Buna paralel olarak hidrofik dejenerasyon, hipertrofi sayısında artış olduğu kaydedilmiştir. Aynı zamanda spermatagonyumlarada meydana gelen hipertrofi kaynaklı lümen atrofisi gözlenmiştir (Şekil 4.48).

21. günde testis dokularında meydana gelen histopatolojik değişikliklerin şiddeti artmıştır. 21 gün sonunda nekroze bölgelerin sayısı artmıştır. Seminifer tübül hücrelerinde, spermatogonyumlarda hidrofik dejenerasyon ve piknotik çekirdek sayısında artış meydana gelmiştir. Leydig hücresinde hidrofik dejenerasyon kaydedilmiştir (Şekil 4.49).

4.1.4.4. Atrazin Grubunda (Grup VI) Belirlenen Histopatolojik Bulgular

0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testis dokusunda 7. günün sonunda az sayıda piknotik çekirdek, spermatagonyumlarda hidrofik dejenerasyon ve hiperptrofi gözlenmiştir (Şekil 4.50).

14 günün sonunda testis dokularında pestisit maruziyetine bağlı olarak meydana gelen histopatolojik değişikliklerin şiddetinin arttığı gözlenmiştir. Bu dönemde balıkların

spermatagonyumlarında hidrofik dejenerasyon devam ederken bu patolojinin sıklığı artmıştır. Ayrıca 14. Günde testis dokularında nekroz görülmeye başlanmıştır. Leydig hücrelerinde hipertrofi ve hidrofik dejenerasyon göze çarpmaktadır (Şekil 4.51).

Atrazin'e maruz bırakılan canlıların testislerinde meydana gelen en şiddetli histopatolojik değişiklikler, 21. günün sonunda şiddetli nekroz olarak gözlenmiştir. Piknotik çekirdekler tüm yapıda görülmektedir (Şekil 4.52).

Morfolojik olarak balıklarda sağlıklı bir testis, çeşitli organeller ihtiva eden ve gonadların destekleyici ve fonksiyonel uniteleri olan Leydig ve Sertoli hücrelerini içermektedir. Sertoli hücreleri, erişkinlik sırasında canlıların erkek bireylerinin somatik cinsiyetinin belirlenmesinde ve spermatogenezde önemli bir rol oynar (Gaikwad ve ark. 2016). Sertoli hücresi, gelişmekte olan bir eşey hücre kolonisini besin ve büyüme faktörleriye destekler.

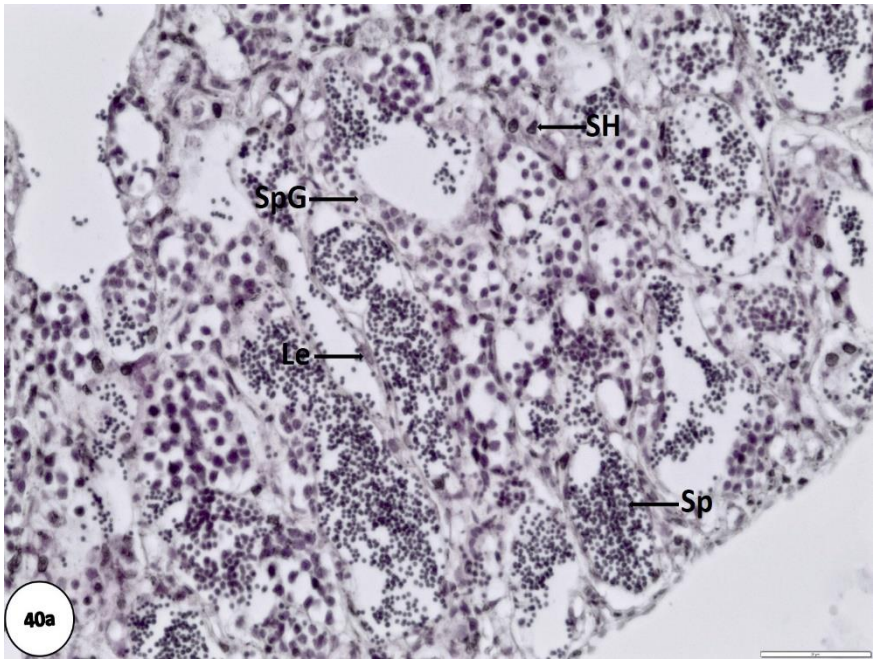
Birçok balık türünde testisler, stroma içine gömülü dallanmış seminifer tübüllerinden oluşan bir çift uzamış yapıdan ibarettir. Testisler, endodermal kökenli eşey hücrelerini (spermatogonyum) içeren lobullerden ya da ince duvarlı tübüllerden oluşmaktadır (Matta ve ark. 2002). Eşey hücreleri ise bir kapsül tarafından sarılmış kitlelere bölünmüşlerdir. Primer spermatogonyumlar (eşey ana hücreleri) mitotik olarak bölünerek sekonder spermatogonyumları meydana getirirler ve daha sonra sekonder spermatogonyumlar ise primer spermatositlere dönüşürler (Lofts 1968). Spermatositler mayoz bölünme geçirerek spermatidleri, spermatidler ise olgunlaşarak spermatozoaları meydana getirirler. Omurgalı testisleri, seminifer tübüllerinde bulunan germinal bölüm içerirler ve bu bölümde somatik (Sertoli hücresi) ve germinal hücreler olmak üzere iki tip hücre bulunur (Gaikwad ve ark. 2016). Memeliler ile karşılaştırıldığında *O. niloticus* bireylerinde bulunan Sertoli hücrelerinin destekleyici kapasitesi belirgin bir şekilde yüksektir (Matta ve ark. 2002).

Yapılan bir çalışmada Carbaryl uygulanan *Channa punctatus* bireylerinin ganotropin salgılayıcı hormonlarında düşüş yaşandığı gözlenmiştir (Gosh ve ark. 1990). Araştırmacılar bu pestisitin, üreme verimini düşürdüğünü bildirmişlerdir. Rorh ve McCoy (2010) yaptıkları bir çalışmada, Atrazin'in balıkların gonadal morfolojisini, fonksiyonunu, cinsiyet hormonu değerlerini ve spermatogenezi değiştirdiğini bildirmişlerdir. Diazinon'un balık testislerinde histolojik değişikliklere neden olduğuna

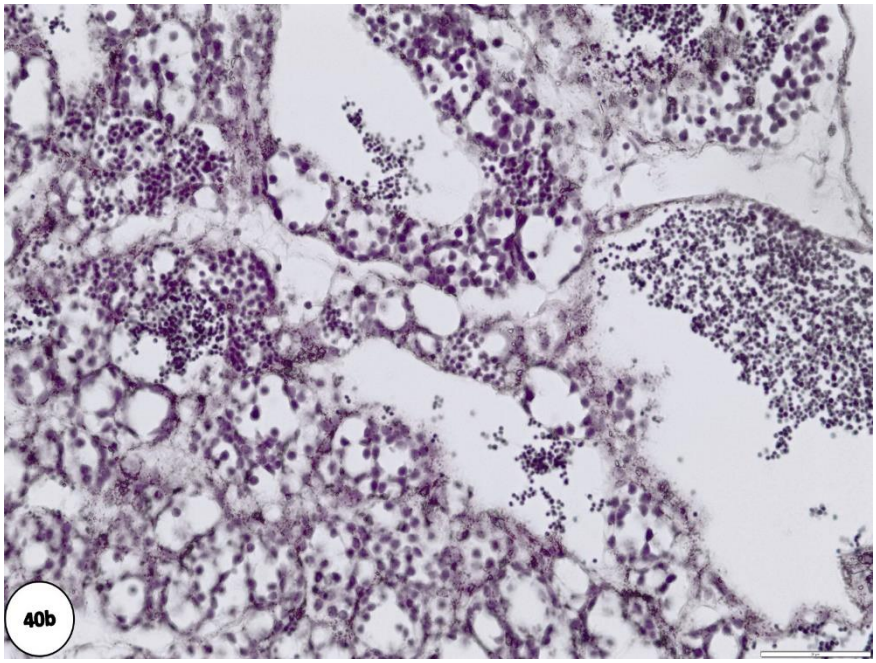
dair literatürde çalışmalar mevcuttur. Yapılan bir çalışmada araştırmacılar, *Lepomis macrochirus* türüne ait bireyleri 2 hafta boyunca Diazinon'un belirli konsantrasyonlarına maruz bırakmışlardır (Dutta ve Meijer 2003). Çalışma sonunda araştırmacılar bu pestisitin maruziyet süresi uzadıkça histopatolojik bulguların şiddetinin arttığını bildirmişlerdir. Bu histopatolojik bulguları sperm hücrelerinin büyümesi, seminifer tübül lümeninde atrofi, seminifer tübül hücrelerinin bazal laminadan ayrılması olarak bildirmişlerdir.

Koç ve ark. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, subletal dozlarda deltametrin uygulanan *Xiphophorus helleri* bireylerinin testislerinde meydana gelen histopatolojik değişiklikler incelenmiştir. Araştırmacılar yaptıkları çalışma sonucunda, bu kimyasalın subletal dozlarının *X. helleri* bireylerinin testis seminifer tübüllerinde dejeneratif değişiklikler meydana getirdiğini ve olgunlaşmış sperm sayısını belirgin bir şekilde düşürdüğünü rapor etmişlerdir. Genel olarak pestisit maruziyetinden sonra gonadlarda meydana gelen atrofi de rapor edilmiştir (Koç ve ark. 2009). Ayrıca yapılan çalışmalarda çeşitli pestisitlere maruz kalan canlılarda seminifer tübüllerinde nekroz ve dejenerasyon, intertistiyal hücrelerde atrofi, sperm kanalında kalınlaşma ve eşey hücrelerinde deformasyon gibi birçok histopatolojik lezyon bildirilmiştir (Pandey ve Shukla 1980, Bhattacharya ve Pandey 1989). Ratlar üzerinde yapılan bir diğer çalışmada ise endosulfanın canlıların testis ağırlığında belirgin bir azalış kaydedilmiştir (Sinha ve ark. 2001). Ayrıca endosulfanın yine ratların testislerinde vakuolizasyona, seminifer tübül duvarında dalgalanmaya ve testiküler dokuda atrofiye neden olduğu bildirilmiştir (Koç ve ark. 2008).

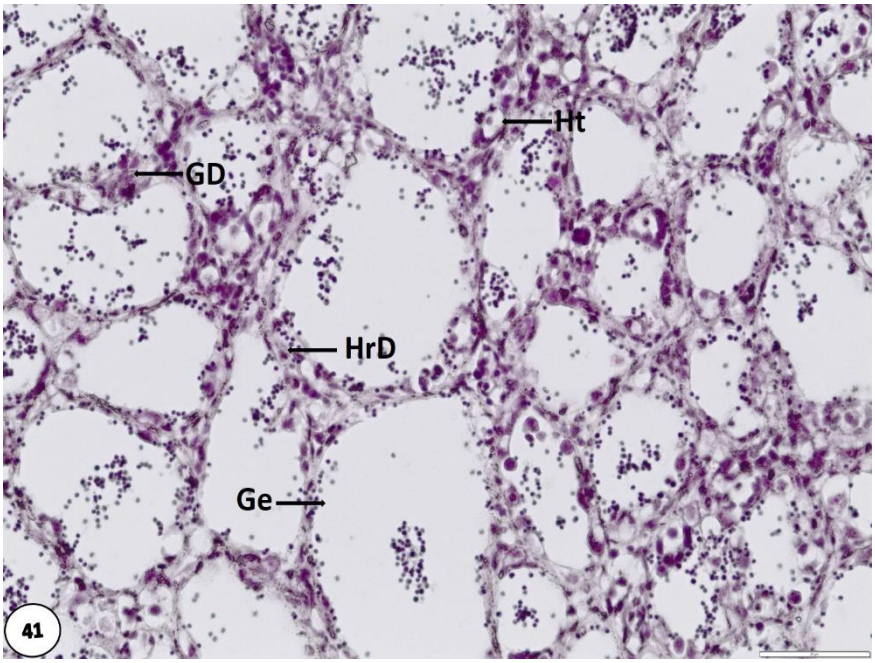
Pestisitlerin balıkların testislerinde özellikle eşey hücrelerinde histopatolojik değişiklikler meydana getirdiğini bildiren birçok çalışma yapılmıştır. Bir çalışmada Poliklorlu bifenil (PCB) uygulanan *Cyprinion watsoni* bireylerinin testislerinde spermatogonyum içeren kapsüler yapılarda azalma, bu spermatogonyumların çekirdeklerinde ve nükleer membranlarında morfolojik deformasyonlar olduğu bildirilmiştir (Ishaq 2001). Zutshi (2005) ise fenthiona maruz bırakılan *Glossogobius giuris* bireylerinin testislerinde spermatidlerin büyüklüklerinde azalma ve dejenere olmuş spermler tespit etmiştir.



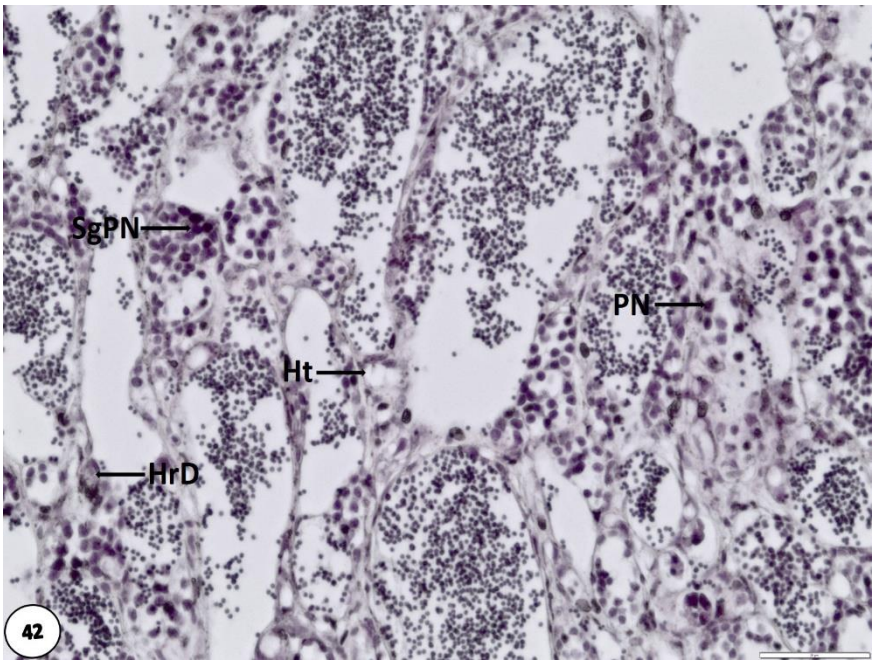
Şekil 4.40a. Kontrol (Grup I) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin testis yapısı: Leydig Hücresi (Le), Spermatozoa (Sp), Sertoli Hücresi (SH), Spermatagonyum (SpG) (40X) (Hematoksilen-Eosin) (21. Gün).



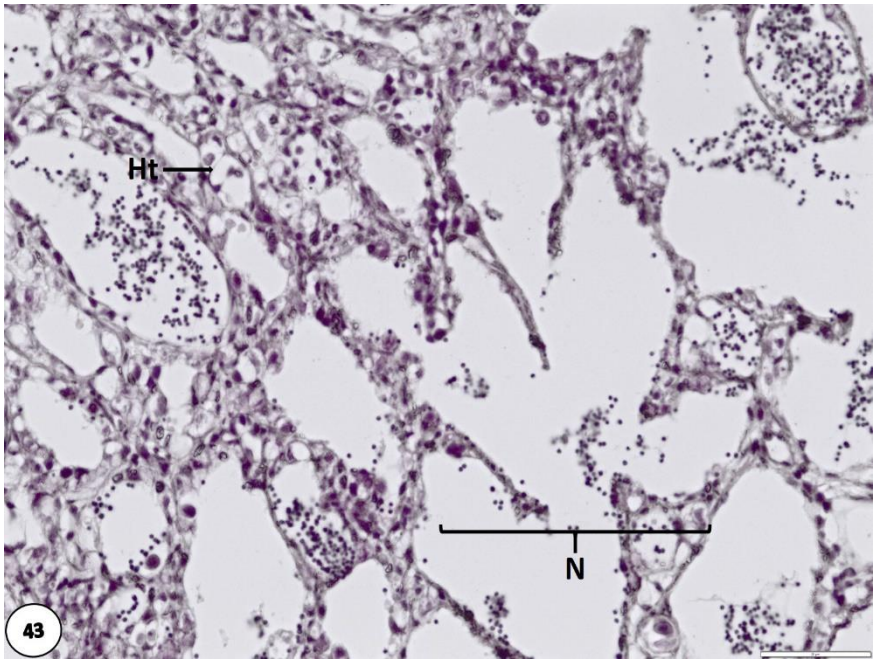
Şekil 4.40b. Aseton kontrol (Grup II) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin testis yapısı (40X) (Hematoksilen-Eosin) (21. Gün).



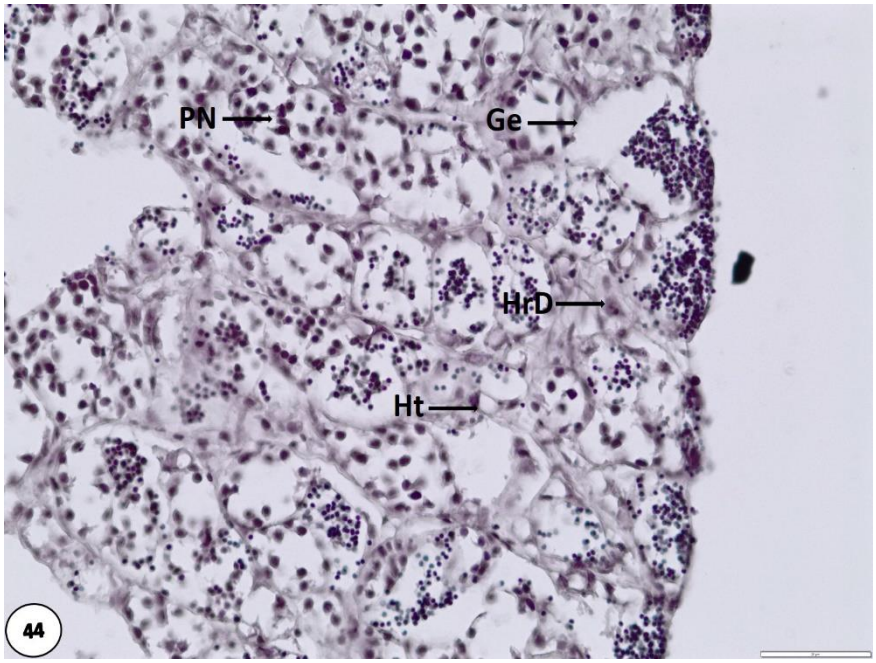
Şekil 4.41. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: Lyedig hücresinde hidrofik dejenerasyon (HrD), spermatagonyumlarda garnüler dejenerasyon (GD), spermatagonyumlarda hipertrofi (Ht), seminifer tübülünde genişleme (Ge) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



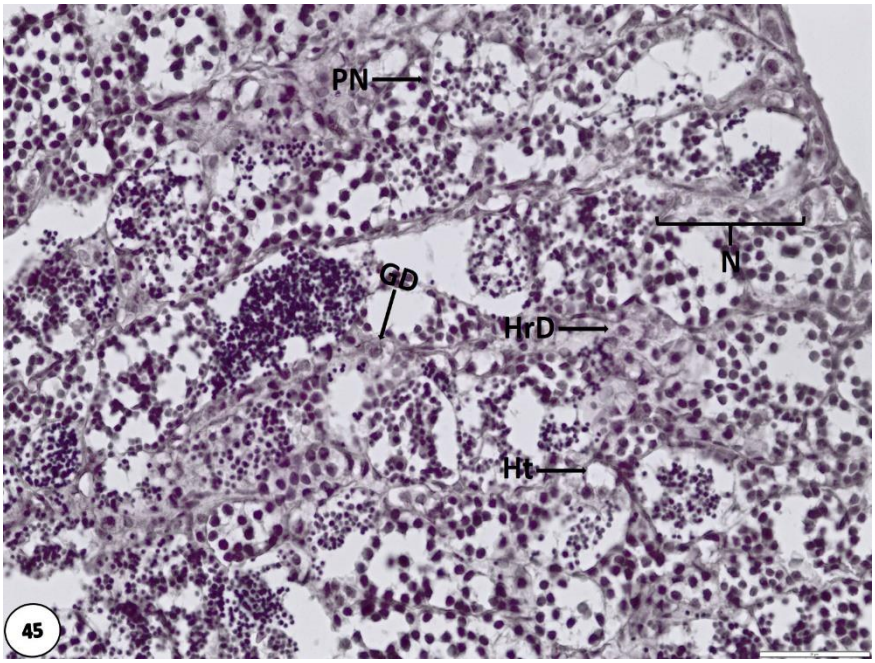
Şekil 4.42. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: Sertoli hücresinde piknotik çekirdek (PN), spermatagonyumlarda piknotik çekirdek (SgPN), Spermatagonyumlarda hipertrofi (Ht), Spermatagonyumlarda hidrofik dejenerasyon (HrD) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



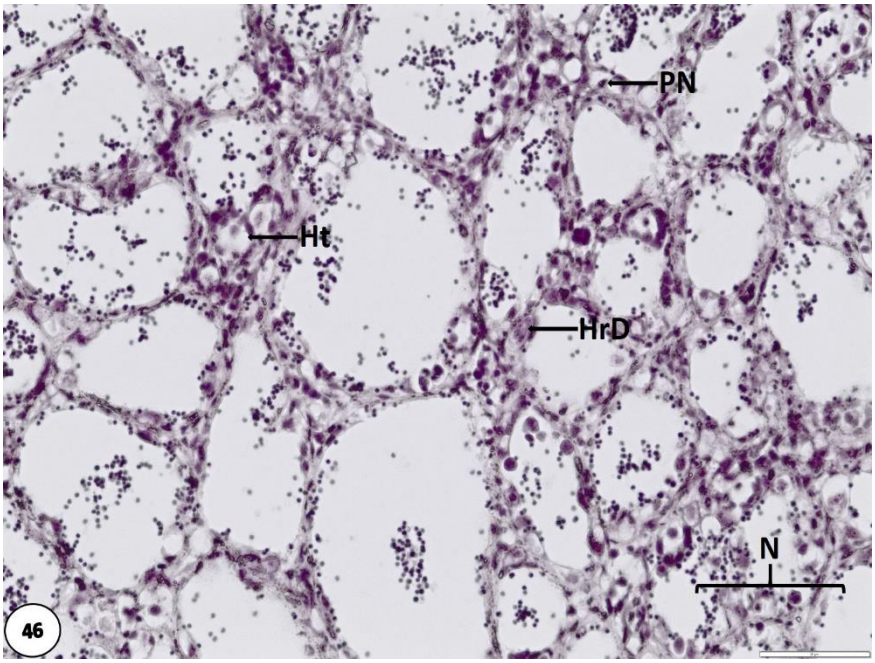
Şekil 4.43. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: nekroze bölge (N), spermatogonyumlarda hipertrofi (Ht) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



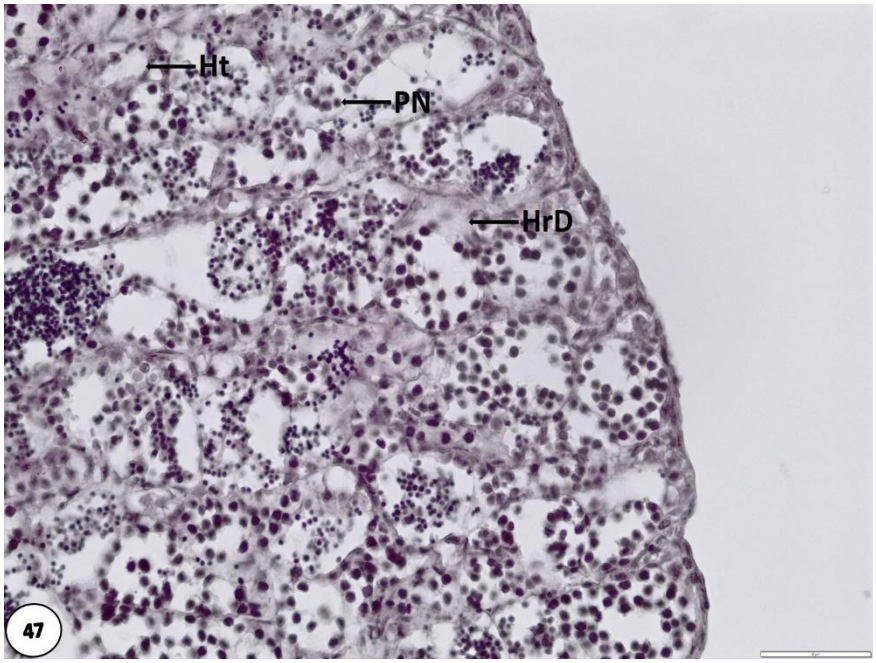
Şekil 4.44. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: Spermatagonyumlarda hidrofik dejenerasyon (HrD), seminifer tübüllerinde genişleme (Ge), spermatagonyumlarda piknozis (PN), Spermatagonyumlarda hipertrofi (Ht) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



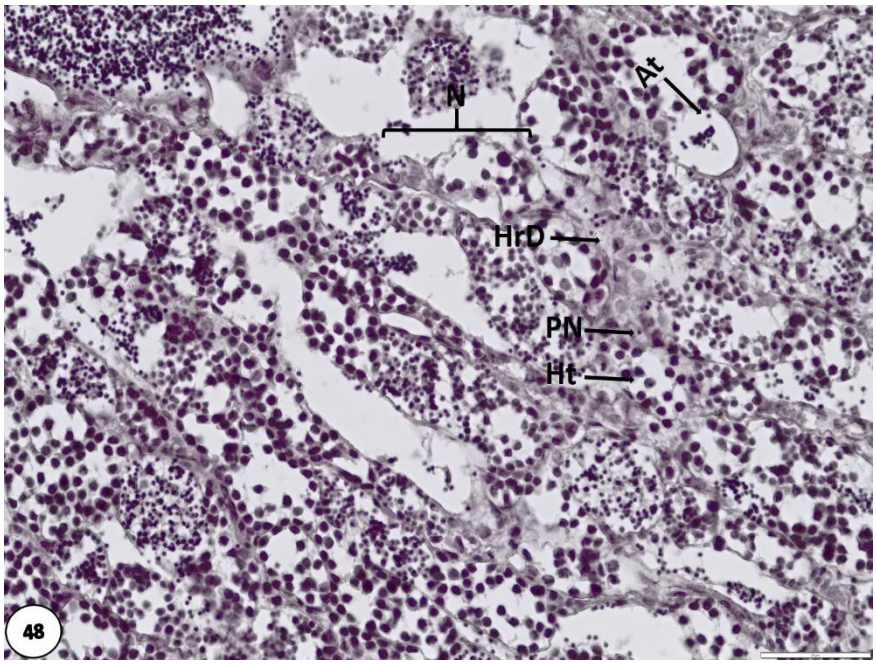
Şekil 4.45. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: Spermatagonyumlarda hidrofik dejenerasyon (HrD), spermatagonyumlarda granüler dejenerasyon (GD), Spermatagonyumlarda piknozis (PN), Spermatagonyumlarda hipertrofi (Ht), nekroze bölge (N) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



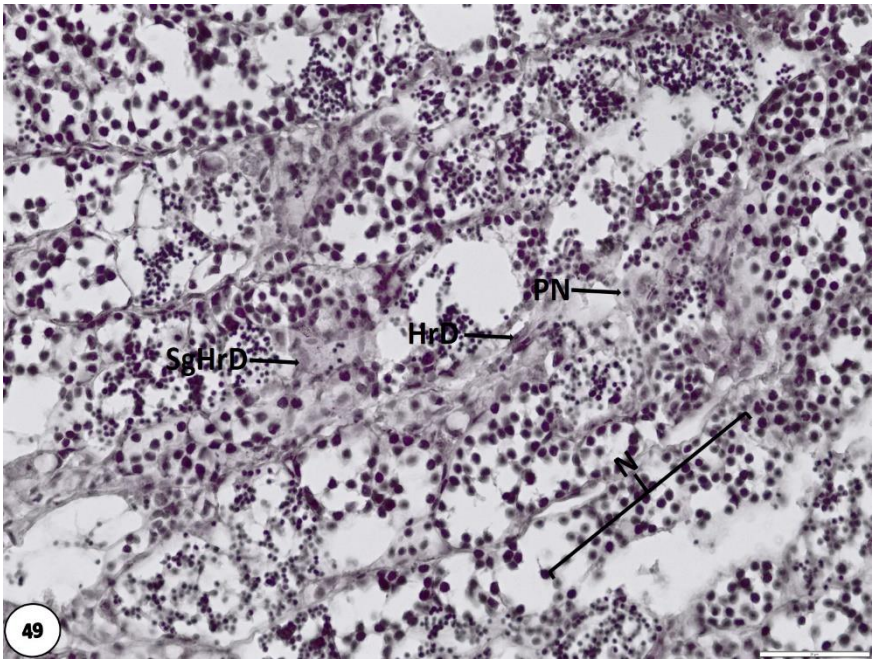
Şekil 4.46. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: Sertoli hücresinde piknozis (PN), spermatagonyumlarda hidrofik dejenerasyon (HrD), spermatagonyumlarda hipertrofi (Ht), nekroze bölge (N) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



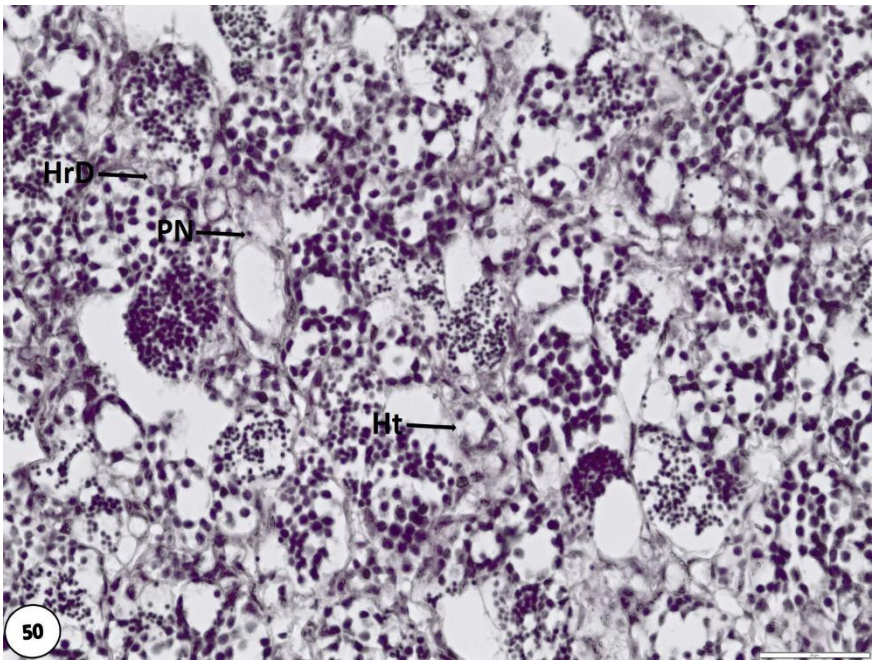
Şekil 4.47. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: Spermatagonyumlarda hidrofik dejenerasyon (HrD), Spermatagonyumlarda hipertrofi (Ht), spermatagonyumlarda piknozis (PN) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



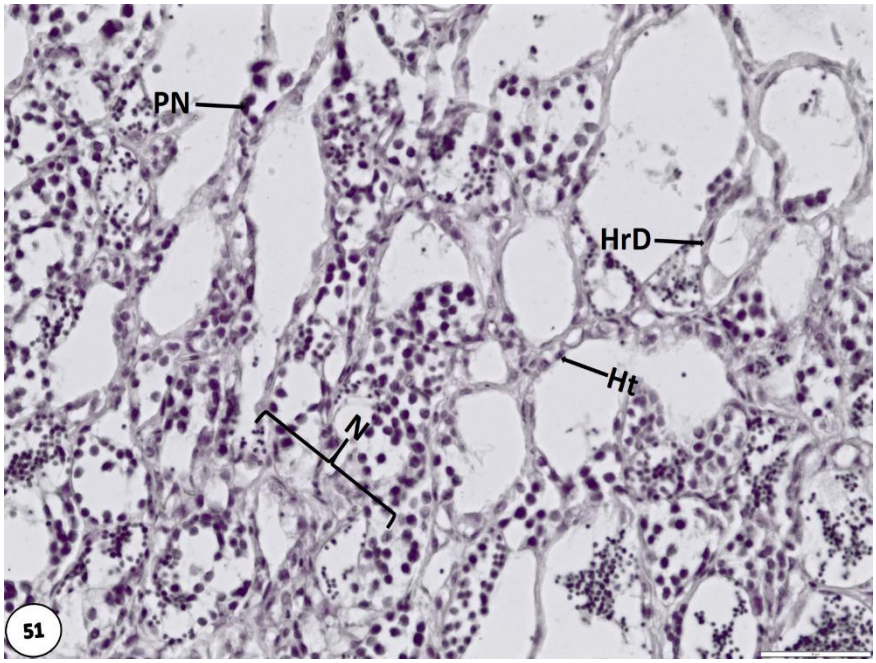
Şekil 4.48. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: Spermatagonyumlarda hidrofik dejenerasyon (HrD), spermatagonyumlarda piknozis (PN), seminifer tübül lümeninde atrofi (At), Spermatagonyumlarda hipertrofi (Ht), nekroze bölge (N) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



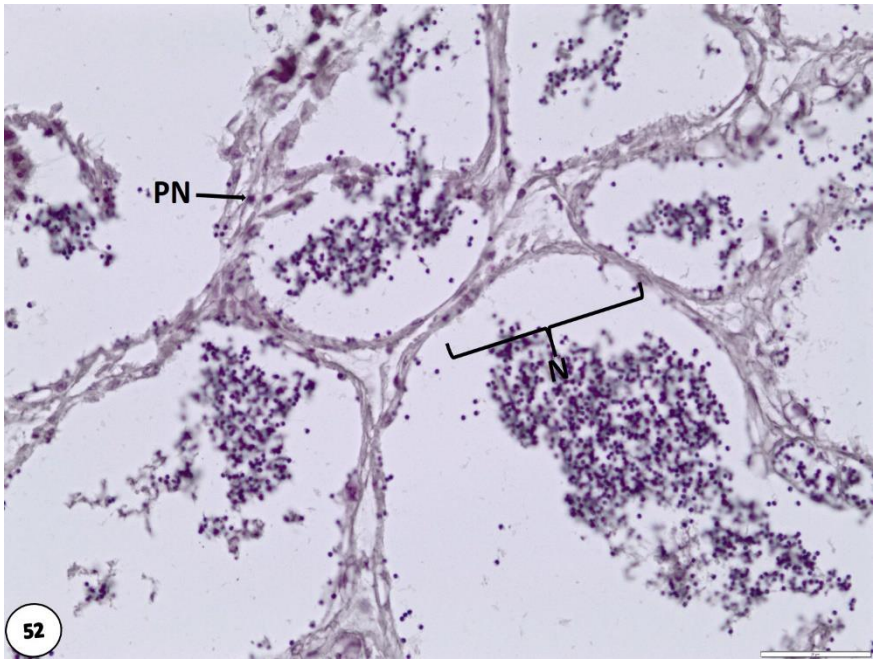
Şekil 4.49. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: Leydig hücresinde hidrofik dejenerasyon (HrD), spermatagonyumlarda hidrofik dejenerasyon (SgHrD), spermatagonyumlarda piknozis (PN), nekroze bölge (N) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



Şekil 4.50. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 7 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: a) Spermatagonyumlarda hipertrofi (Ht), Spermatagonyumlarda hidrofik dejenerasyon (HrD), spermatagonyumlarda piknozis (PN) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



Şekil 4.51. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 14 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: Leydig hücresinde hidrofik dejenerasyon (HrD), Leydig hücresinde hipertrofi (Ht), Spermatagonyumlarda piknozis (PN), nekroze bölge (N) (40X) (Hematoksilen-Eosin).



Şekil 4.52. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 21 gün sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler: nekroze bölge (N), piknotik çekirdek (PN) (40X) (Hematoksilen-Eosin).

4.2. Sitopatolojik [Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM)] Bulgular

4.2.1. Solungaçlar

Balık solungaçları sadece gaz alışverişi, iyon değişimi ve asit baz dengesini sağlayan bir organ değil aynı zamanda nitrojenli atıkların salgılanmasını da sağlayan kompleks bir organdır. Bu karmaşık fonksiyonlarından dolayı solungaçlarda gaz alışverişi yapan hücreler, klorid hücreleri ve mukus hücreleri gibi çok çeşitli hücre yapıları bulunmaktadır. Bu hücrelerde meydana gelen patolojik reaksiyonlar, bir kirletici tarafından indüklenen spesifik bir metabolik süreci başlatabilir (Wendelaar Bonga ve Lock 1992). Bu bağlamda, solungaçlar bir sucul çevrenin sağlığının belirlenmesinde önemli bir biyobelirteçtir.

Solungaç epiteli bir ya da üç sıralı hücre katmanına sahiptir ve epitel hücreleri ile bazal ya da doku içi farklılaşmamış hücrelerden oluşmaktadır. Solungaç epiteli elektron-dens ve daha ince parlak katmanlardan oluşan tipik bir bazal lamina üzerinde yer almaktadır. Genellikle balıklarda, sudan daha fazla oksijen almak amacıyla kan-su difüzyon mesafesini düşürmek için epitel ve bazal laminanın kalınlığı azdır (Wilson ve Laurent 2002).

Balık solungaçlarında bulunan en önemli hücrelerin başında pillar hücreleri gelmektedir. Bu hücreler sadece balık solungaçlarına özgüdür ve modifiye olmuş endotelyal hücreleridir. Bu hücreler sekonder lamellere desteklik sağlarken kanın içinden aktığı hemokoelik boşluklar oluştururlar. Sekonder lamellerde, pillar hücre gövdesi lamellar kan boşluklarının içine kadar uzanır ve merkezi polimorfik bir çekirdeğe sahiptir. (Wilson ve Laurent 2002) (Şekil 4.53a ve 4.53b). Pillar hücrelerinde çok miktarda mitokondri ve serbest ribozom olmasına rağmen, bu hücrelerde golgi cisimciğine, granüllü ve granülsüz endoplazmik retikuluma pek rastlanmaz. Gerçek endotelyal hücrelerden farklı olarak pillar hücrelerinde elektron dense Weibel-Palade cisimcikleri yoktur (Newstead 1967).

Gaz alışverişinden sorumlu epitel hücreleri (Pavement Cells, PVC) solungaçlarda sayıca en fazla bulunan hücrelerdir (yüzey alanının %90'ını ihtiva ederler) (Wilson ve Laurent 2002). Bu epitel hücrelerinin apikal yüzeyleri genellikle geniş ve poligonal yapılıdır ve mikrovilluslar ihtiva edebilir (Olson 1996, Wilson ve ark. 2002). Bu hücrelerde az sayıda mitokondri bulunur. Bu hücreler granüllü ve granülsüz ER, Golgi

cisimciği, lizozom ve çok sayıda elektron dense veziküller gibi tipik organeller bakımından zengindir (Laurent 1984, Mallat ve Paulsen 1986). Gaz alışverişinden sorumlu epitel hücreleri dezmozomlar ile birbirlerine bağlıdırlar ve periferal sitoplazmaları mikrofilament içermektedir.

Solungaçlardaki Goblet tipi mukus hücreleri, büyük oval hücrelerdir ve yapısında bulunan çok miktarda mukus salgısıyla dikkat çeker (Şekil 4.54a ve Şekil 4.54b). Bu hücrelerin sitoplazmaları ve çekirdekleri genellikle yassılaşmıştır ve bazal pozisyonludur (Wilson ve Laurent 2002). Sitoplazmada, çok miktarda müsin üretimine bağlı olarak, salgılamada görev alan ER, Golgi cisimciği ve mitokondri baskındır. Musin granülleri, aynı hücre içerisinde, parlak ya da kısmen elektron dense olarak görülebilirler (Laurent ve Hebibi 1989). Mukus hücreleri filament epitelinde şu sıklıkta bulunurlar: Efferent sınırlar > afferent sınırlar > interlamellar boşluk > lamel tabanı > lamellerin dış sınırları.

Balık solungaçlarında bulunan bir diğer önemli hücre solungaçlarda iyon alışverişi yapan Klorid hücreleri ya da mitokondrice zengin hücrelerdir (MRCs). Bu hücreler sekonder lamellerin bazal kısmında bulunur ve mitokondri muhteviyatının çokluğu bakımından dikkat çeker (Şekil 4.55a ve Şekil 4.55b). MRCs genellikle filament epitelinin afferent bölgesinde yoğunlaşırlar ve arteriovenöz dolaşımı, özellikle merkezi venöz boşluğu ile ilişkilidirler (Laurent 1984). Bu hücreleri tanımlayan en önemli özellik mitokonriyal yoğunluktur. Genel olarak, bu hücrelerde bulunan yoğun mitokondriyal muhteviyatın nedeninin, hücrenin iyon ve asit-baz regülasyonunun bir parçası olan vektörel iyon transportunda ihtiyaç duyduğu ATP enerjisini karşılamak için olduğu düşünülmektedir (Marshall ve ark. 2002). Ayrıca MRCs genellikle bazolateral membranlarında meydana gelen katlanma ya da direk tübüler sistemlerinden kaynaklanan amplifikayonlara sahiptir. Bu amplifikasyon bölgelerinin, iyon regülasyon enzimi olan Na^+, K^+-ATPase ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Marshall ve ark. 2002). MRCs'nin apikal bölgelerinde hücrenin tübüler sisteminden ayrı olan tübül ve veziküller bulunmaktadır. Hücrenin apikal membranı konkavdan konvekse doğru değişen çeşitli görünüşlerde olabilir.

Klorid hücresi terimi, hücrenin Cl^- iyonunun uzaklaştırılması ile ilgili görevinden dolayı bu hücrelere verilmiştir. Deniz teleostlarında, bu hücreler aktif Cl^- giderim bölgeleri oldukları için bu ismi haketmektedirler (Marshall ve ark. 2002). Fakat,

agnatalar, elasmobranşlar ve tatlı su balıklarında, MRCs'lerin Cl^- eliminasyonuna katkıları ya dolaylıdır ya da bu hücrelerde böyle bir özellik yoktur.

Teleost MRC'leri basolateral membrana kadar uzanan dallanmış tübüllerin oluşturduğu belirgin intraselüler sistemleri ile karakterize olmuştur (Wilson ve Laurent 2002). Bu anastomoz tübüler ağ, mitokondrilerin etrafını sıkıca sarar ve apikal membranın hemen altına bağlanır. Bu tübüler yapının yoğunluğu sadece Golgi cisimciğinin olduğu bölgede azalır. Çevresel iyonik şartlar bu hücrelerin, iyon transportasyonunda yaptıkları aktif göreve bağlı olarak, morfolojilerinde belirgin bir etki bırakmaktadır (Perry 1997). Deniz balıklarında solungaçlar ve dolayısıyla MRCs iyon gideriminde aktif olarak görev alırken, tatlı su balıklarında solungaçlar (MRCs) iyon alımında aktif olarak çalışmaktadır (Evans ve ark. 1999).

Yürüttüğümüz çalışmada, 21 gün boyunca kontrol (Grup I) ve aseton kontrol (Grup II) gruplarında bulunan *O. niloticus* bireylerinin solungaç dokusunda herhangi bir sitopatolojik bulguya rastlanmamıştır (Şekil 4.53a ve 4.53b; Şekil 4.54a ve 4.54b; Şekil 4.55a ve Şekil 4.55b).

4.2.1.1. Carbaryl Grubunda (Grup III) Belirlenen Sitopatolojik Bulgular

Yaptığımız çalışmada 850 µg/L Carbaryl'e 7 gün boyunca maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaç dokularının sitopatolojik incelemesinde klorid hücrelerinde vakuoler dejenerasyon, Mast hücreleri granüllerinde azalma ve aynı hücrelerde yağ dejenerasyonu belirlenmiştir (Şekil 4.56 ve 4.57).

14. günün sonunda hücrelerdeki patolojinin şiddeti artmıştır. Klorid hücrelerinde, çekirdek zarının bleblenerek apoptozise uğradığı ve lizozom dejenerasyonu, mitokondri deformasyonu, mast hücresi sayısında artış ve golgi zarında bozulma görülmektedir (Şekil 4.58, 4.59 ve 4.60).

21. günün sonunda solungaç yapısında nekroze bölgeler görülürken (Şekil 4.61), mukus hücre sayısında artış, buna bağlı olarak aşırı mukus salgısı ve bleblenmiş çekirdekli MRCs dikkat çekmektedir (Şekil 4.62).

4.2.1.2. Diazinon Grubunda (Grup IV) Belirlenen Sitopatolojik Bulgular

280 µg/L Diazinon kosantrasyonuna maruz kalan canlıların 7. günde solungaç dokularında sekonder lamellerde epitel ayrılması ve pillar hücrelerinde vakuolizasyon görülmektedir (şekil 4.63). Klorid hücrelerinin mikrotübül yapısında bozulmalar gözlenmiştir (Şekil 4.64).

14. günde Diazinon'a maruz kalan canlıların solungaç ultrasütrüktüründeki sitopatolojik bulgular artmıştır. Solungaçların sekonder lamellerinde pillar hücrelerinin çökmesine bağlı olarak, sekonder lamellerde kan sirkülasyonu bozulmuştur (Şekil 4.65). Aynı zamanda sekonder lamellerde epitel ayrılması şiddetlenerek devam etmiştir (Şekil 4.66). MRCs'de hipertrofi ve vakuolizasyon meydana gelirken, doku içi farklılaşmamış epitel hücresinde piknotik çekirdek ve dokuda lenfosit-monosit infiltrasyonu kaydedilmiştir (Şekil 4.67). Aynı zamanda Goblet hücrelerinin sayısı artmış ve buna bağlı olarak aşırı mukus salgısı gözlenmiştir (Şekil 4.68).

21. günde solungaç dokularında nekroze hücreler görülürken (Şekil 4.69), klorid hücrelerinde aşırı vakuolleşme tespit edilmiştir (Şekil 4.70).

4.2.1.3. Lambda-cyhalothrin Grubunda (Grup V) Belirlenen Sitopatolojik Bulgular

0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e 7 gün boyunca maruz kalan canlıların solungaçlarında klorid hücrelerinde hipertrofi (şekil 4.71), sekonder lamellerde epitel ayrılması ve pillar hücresinde atrofi (Şekil 4.72) ve sekonder lamellerde pillar hücresinin çökmesine bağlı olarak kan sirkülasyonunda bozulma (Şekil 4.73) gözlenmiştir.

14. günün sonunda sekonder lamellerdeki epitel ayrılmasının şiddeti artmıştır ve pillar hücrelerinde yıkılmalar şiddetlenmiştir (Şekil 4.74). Dokularda bleblenmiş çekirdekli hipertrofik MRCs'ler görülmüştür ve bu MRCs'de vakuolizasyon belirlenmiştir (Şekil 4.75). Klorid ve mukus hücrelerinde hipertrofi belirlenmiştir (Şekil 4.76).

21. günde nekroze bölgeler ve nekrozun öncülü olan bleblenmiş çekirdekli MRCs tespit edilmiştir (Şekil 4.77). Pillar hücrelerinin aşırı yıkımı sonucu sekonder lamellerde anevrizma belirlenmiştir (Şekil 4.78).

4.2.1.4. Atrazin Grubunda (Grup VI) Belirlenen Sitopatolojik Bulgular

0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin 7. gün sonunda klorid hücrelerinin mitokondrilerinde krista (Şekil 4.79) ve golgi cisimciği deformasyonu kaydedilmiştir (Şekil 4.80).

14. günde MRCs de vakuolleşme ve mitokondrilerde krista deformasyonu gözlenmiştir (Şekil 4.81). Goblet hücrelerinde meydana gelen aşırı mukus salgısı ve bununla bağlantılı olduğu düşünülen hipertrofi dikkat çeken bir diğer patolojik değişikliktir (Şekil 4.82).

21. günde ise sekonder lamellerde pillar hücrelerinin çökmesine bağlı olarak meydana gelen anevrizma ve epitel ayrılması (Şekil 4.83) ve aşırı mukus salgısı sonucu Goblet hücrelerinde hipertrofi ve solungacın apikalinde bulunan gaz alış-verişinden sorumlu epitel hücrelerinde vakuolizasyon görülmektedir (Şekil 4.84).

Solungaçların birçok fonksiyonu epitel hücreleri, Klorid hücreleri ve Goblet hücreleri gibi hücreler tarafından sağlanmaktadır. Bu hücrelerde kontaminasyon sonucu meydana gelen patolojik reaksiyonlar spesifik patolojik süreçler ile ilgilidir (Schwaiger ve ark. 1997). Solungaçlarda meydana gelen hücresel yanıtlar, sadece balıkların metabolizmasında oluşan bozuklukları değil aynı zamanda canlının kirlenmiş çevreye adaptasyonunu da göstermektedir (Lacroix ve ark. 1993). Solungaç ultrasükrüktürünün balık için farklı çevresel şartları yansıttığı ve ksenobiyotik maruziyetine hassas olduğu gösterilmiştir (Pratap veWendelaar Bonga 1993, Weinstein ve ark. 1997). Balıklarda, organik ksenobiyotikler hızlıca solungaçlardan geçerek kan sirkülasyonu ile diğer organları da kirletmektedir (Dutta 1996).

Solungaçlarda meydana gelen primer lezyonlar (epitel ayrılması, nekroz, Klorid hücrelerinde hipertrofi vb.) balıklar üzerinde yapılan birçok ksenobiyotik çalışmada gösterilmiştir (Smart 1976, Mallat 1985, Evans 1987). Wendelaar Bonga ve Lock (1992) solungaçlarda meydana gelen herhangi bir hasarın iyon dengesini bozduğunu ve geçici osmoregülatör yanıtları ortaya çıkardığını vurgulamıştır. Solungaç dokularında meydana gelen epitel ayrılmasının tipik bir inflamatuvar reaksiyon olduğu bildirilmiştir (Mallat 1985). Epitel ayrılması su-kan difüzyon bariyerini genişleterek suda eriyen ksenobiyotiklerin geçişini zorlartırır (Morgan ve Tovell 1973). Çalışmamızda

solungaçlarda gözlemlediğimiz lenfosit-monosit infiltrasyonu bu inflamasyonun bir sonucu olarak düşünülmektedir.

Yapılan bir çalışmada, nehirdeki kirliliğe maruz kalan balıkların Klorid hücrelerinin endoplazmik retikulumlarında dilatasyon ve vakuolleşme gözlenmiştir (Pawert ve ark. 1998). ER dilatasyonu, petiside maruz kalmış salyangozlarda da bildirilmiştir (Triebskorn ve Kohler 1992). Bu değişimler detoksifikasyon sürecinin birer sonucu olarak dünşünülmektedir. Genel olarak Klorid hücreleri, balığın asit-baz ve iyon dengesinin korunmasını sağlar. Bu hücrelerin hasar görmesinin sonucu olarak balık metabolik asidozis ve alkalozisten ölebilir (Velmurugan 2011). Hasar görmemiş hücrelerin hasarlı ve bu yüzden yıkıma uğramış hücrelerin yerine getirilmesine rağmen, yeni oluşturulan hücreler detoksifikasyon yüzünden aşırı faaliyet göstermelerinden dolayı zarar görüp tekrar yıkıma uğrayabilirler. ER'de meydana gelen değişimler membran proteinlerinin aşırı üretiminden kaynaklanıyor olabilir.

Ayrıca MRC'lerde meydana gelen hipertrofi ve hiperplazi, balığın solungaçlarda iyon transferinin bozulmasından dolayı böbreklerin proksimal ve distal tübüllerinde meydana gelen aşırı iyon kaybını tolere etmek için meydana gelebilir (Triebskorn ve ark. 2004).Toksik kimyasallar üzerinde yapılan çalışmalarda MRClerin bu tepkileri, ağır metaller gibi toksik ajanlar tarafından indüklenen iyon kaybına karşı göstermiş oldukları telafi edici yanıtlar olarak değerlendirilmektedir (Oransaye ve Brafield 1984, Pelgrom ve ark. 1995). Bu bakımdan, çalışmada pestisit maruziyetine bağlı gerçekleşen MRCs hipertrofisi, bu hücrelerin aşırı salgılama yapması ve farklı iyonik ortamlara adaptasyonu olarak düşünülebilir (Laurent ve Hebibi 1988, McDonald ve ark. 1991). Sekonder lamellerde meydana gelen hiperplazinin, komşu sekonder lamellerin füzyonuyla sonuçlandığı, spesifik toksinlere maruz kalmış birçok balığın solungaçlarında rapor edilmiştir (Kumaraguru ve ark. 1982). Bu bağlamda, hiperplazi oksijenli su ile kan arasındaki mesafeyi arttırıp, sonuç olarak, kana daha az oksijen geçmesine neden olabilir.

Epitel ayrılması, hiperplazi ve sekonder lamellerin füzyonunun, birçok solungaç tahrip edici kimyasala karşı oluşturulmuş spesifik olmayan yanıtlar olduğu bilinmektedir (Mallat 1985). Fakat hücrelerde görülen hipertrofi ve nekrozun, balıklarda ağır metallerin direkt zararlı etkilerini yansıttığı bildirilmiştir (Matei ve Komov 1992, Sola ve ark. 1995). Nekrotik hücrelerin TEM görüntüleri, nekrotik hücrelerin organellerinin ve

sitoplazmalarının şiştiğini ve daha elektron dense boyandığını göstermiştir (Reddy ve Rawat 2013). Solungaçlarda, pillar hücre nekrozu, MRCs hipertrofisi ve epitel ayrılması sekonder lamellerde belirgin olarak görülebilmektedir (Triebskorn ve ark. 2004). Primer flamentler ve sekonder lameller (hücrelerin sitoplazmik yapısı, çekirdek, ER, Golgi cisimciği, mitokondriler, hücresel kalıntılar ve epitel hücrelerinin arasındaki boşluklarda dahil olmak üzere), MRCs ve pillar hücreleri solungaçların fonksiyonel bölümleri olarak değerlendirilmektedir (Triebskorn ve ark. 2004).

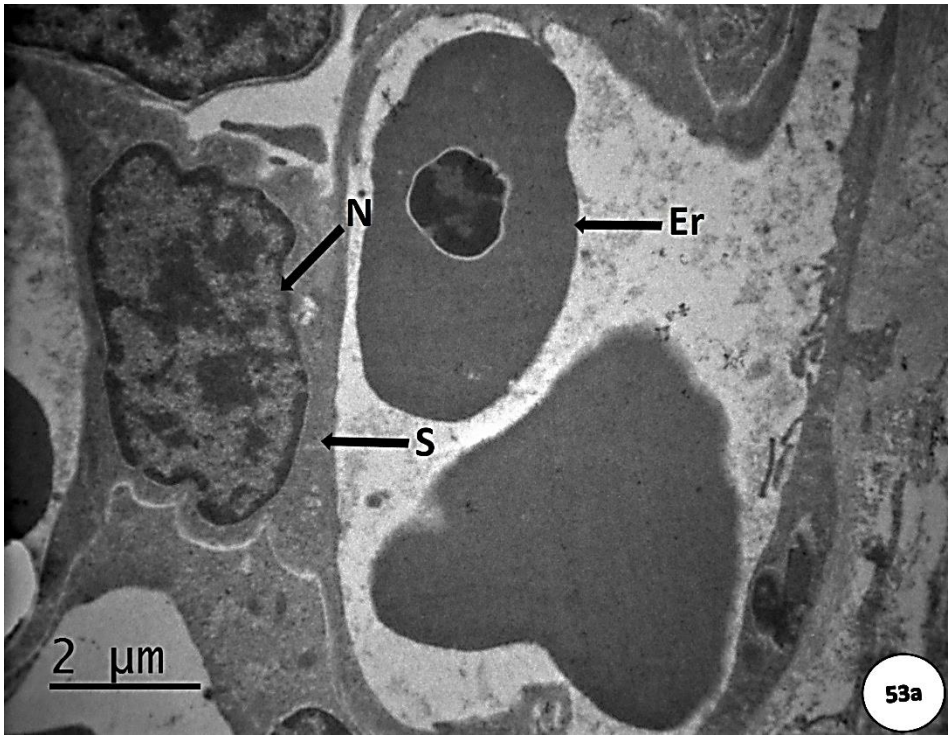
Pillar hücrelerinin çökmesine bağlı olarak meydana gelen anevrizma, Mallat (1985) tarafından balık solungaçlarının organik kirleticilere karşı göstermiş olduğu güçlü bir yanıt olarak değerlendirilmiştir. Epitel ayrılması, intraselüler ödem, epitel hücrelerinde meydana gelen dejeneratif değişiklikler ve pillar hücrelerinin çökmesi gibi patolojiler bir organofosfat olan Azodrin® 400 ticari insektisitine maruz kalmış balıkların solungaçlarında da rapor edilmiştir (Rudnicki ve ark. 2009). Benzer hücresel değişimler, kirlenmiş nehirlerde yaşayan birçok farklı balık türü için de belirlenmiştir (Hugla ve ark. 1995, Schramm ve ark. 1998, Gernhofer ve ark. 2001).

Alazemi ve arkadaşları (1996), Atrazin'e maruz kalan balıkların solungaçlarının TEM görüntülerinde sekonder lamellerde belirgin sıkışma ve incelmiş lamellar epitel olduğunu rapor etmişlerdir. Malathiona maruz bırakılmış *Heterpneustes fossilis* bireylerinin solungaçlarının TEM görüntülerinin incelendiği bir çalışmada ise lenfoid boşlukta daralma ve lökosit infiltrasyonu, epitel ayrılması, basal membranda kalınlaşma ve yüksek miktarda MRCs proliferasyonu kaydedilmiştir (Dutta ve ark. 1996).

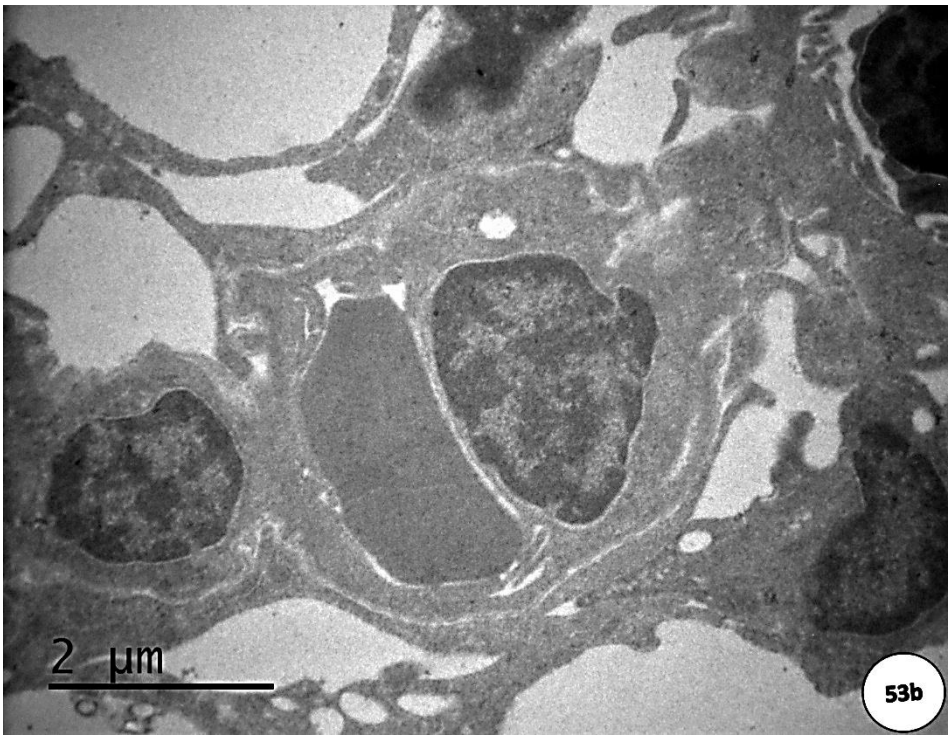
Çekirdeğin üç boyutlu yapısında meydana gelen anormallikler birçok genetik hastalıkla ilişkilidir. Bu değişiklikler, nükleer bleblenmesi olarak da bilinen çekirdeğin anormal lobüllü halini de kapsamaktadır (Broedersz ve Brangwynne 2013). Çekirdek bleblenmesinin, Tip V ara filament protein süper ailesinden olan laminleri kodlayan genlerde meydana gelen mutasyonlardan kaynaklandığı düşünülmektedir (Krohne ve ark. 2005). Hasarlı hücrelerin çekirdeklerinde meydana gelen bleblenme, hücrenin öleceğinin bir göstergesidir (Barros ve ark. 2003). Çekirdek bleblenmesinin hücre fizyolojisindeki rolü çok az anlaşılmış olmasına rağmen, bu olayın hücre apoptozisindeki önemi son yıllarda çok fazla dikkat çekmektedir.

Apopotozis, programlı hücre ölümü, çok hücreli canlılarda gelişimin normal bir döngüsü olarak bilinen hücresel bir olaydır. Hücreler çeşitli uyaranlara yanıt olarak ölürler ve bunu programlı olarak düzenli bir yol izleyerek yaparlar (Özten Kandaş 2004). Ancak herhangi bir şekilde hasara uğramış hücrelerde meydana gelen nekroz sonucu da hücreler apoptoza uğrayabilirler. Bu tür hücrelerde gözlenen nekrotik blebler hipoksiya, metabolik zehirlenmeler ya da serbest radikallerin aşırı birikmesi gibi daha zararlı uyaranlar sonucu meydana gelebilir (Jewell ve ark. 1982). Hücre lizisinin son aşamalarında çekirdekte görülen nekrotik blebler aynı zamanda apoptotik bleblerden de meydana gelebilir ve geri çekilmeden devam ederek mikrometrenin on katı büyüklüğüne erişebilirler (Barros ve ark. 2003). Yapılan çalışmalarda bir toksik kimyasal sonucu kromozomlarda veya gen amplifikasyonundan dolayı meydana gelen problemlerin, loblu ya da blebli çekirdeğe neden olduğu bildirilmiştir (Tolbert ve ark. 1992, Shimizu ve ark. 1998, Shimizu ve ark. 2000). Yaptığımız çalışmada gözlemlediğimiz bleblenmiş hücre çekirdeği, Carbaryl ve Lambda cyhalothrin insektisit maruziyeti sonucu meydana gelen hipoksiyadan kaynaklanmış olabilir. Yapılan bir çalışmada araştırmacılar, Lambda-cyhalothrin'in *O. niloticus* bireylerinde oksidatif strese neden olarak hücrelerde apoptozis ihtimalini arttırdığını bildirmişlerdir (Piner ve Üner 2012).

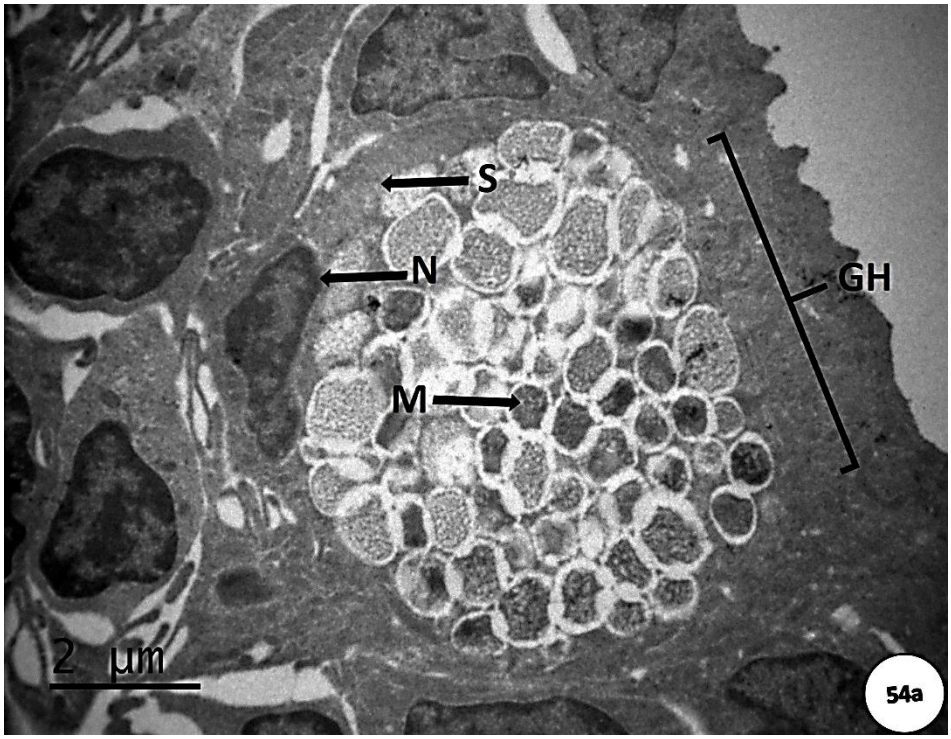
Goblet hücrelerinin sayılarında ve hücre içi salgı yada granüllerinde artış suda bulunan ksenobiyotiklerin alımını güçleştirmek için meydana gelmiş bir metabolik savunmadır (Velmurugan 2011).



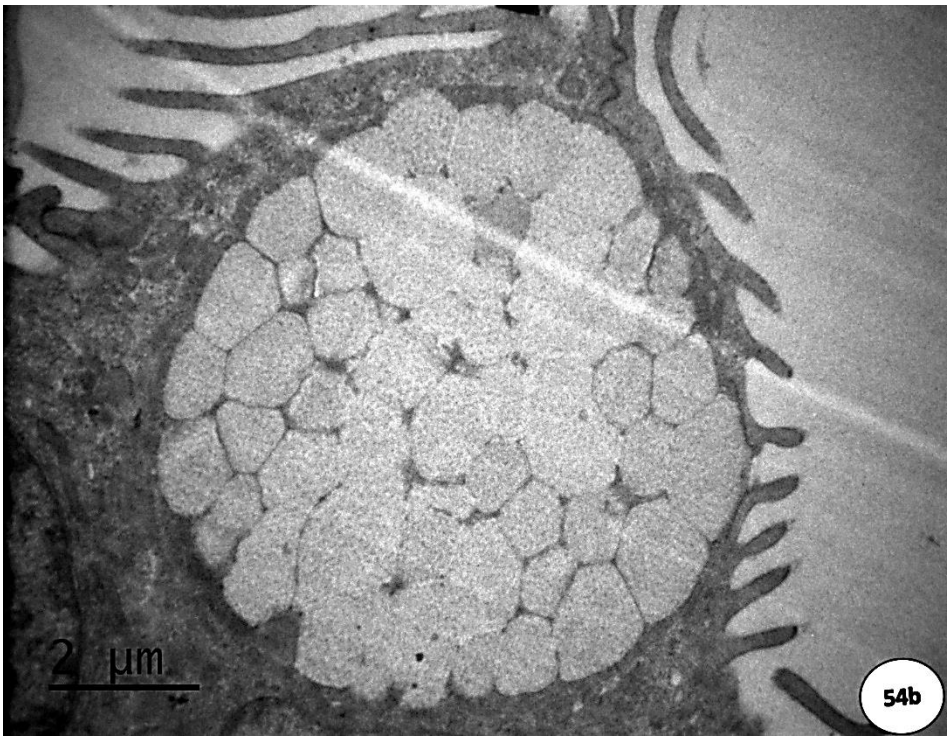
Şekil 4.53a Kontrol (Grup I) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin pillar hücresi yapısı: Pillar Hücre Çekirdeği (N), Pillar Hücre Gövdesi (S), Eritrosit (Er) (21. Gün).



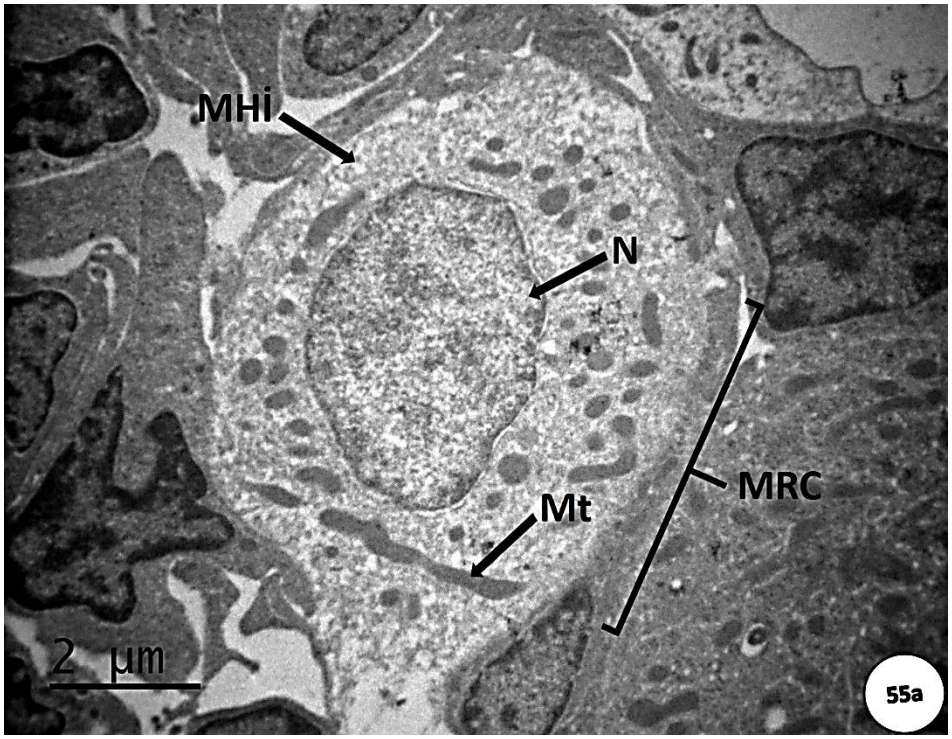
Şekil 4.53b. Aseton kontrol (Grup II) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin pillar hücresi yapısı (21. Gün).



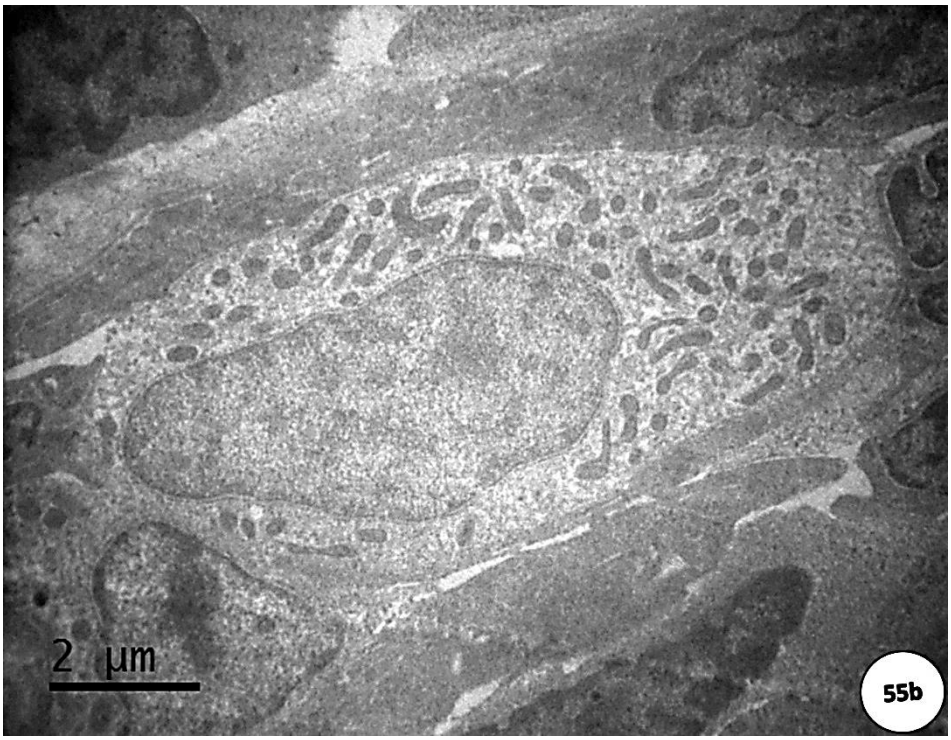
Şekil 4.54a. Kontrol (Grup I) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin Goblet hücresi yapısı: Goblet hücresi (GH), Goblet hücre çekirdeği (N), Müsin salgısı (M), Goblet hücre sitoplazması (S) (21. Gün).



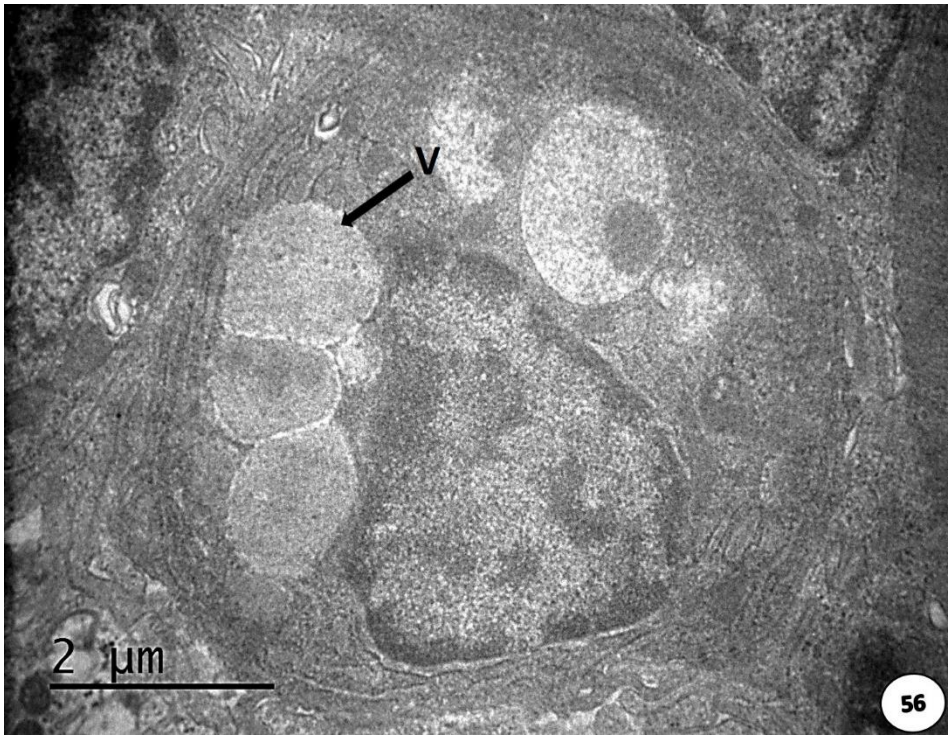
Şekil 4.54b. Aseton kontrol (Grup II) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin Goblet hücresi yapısı



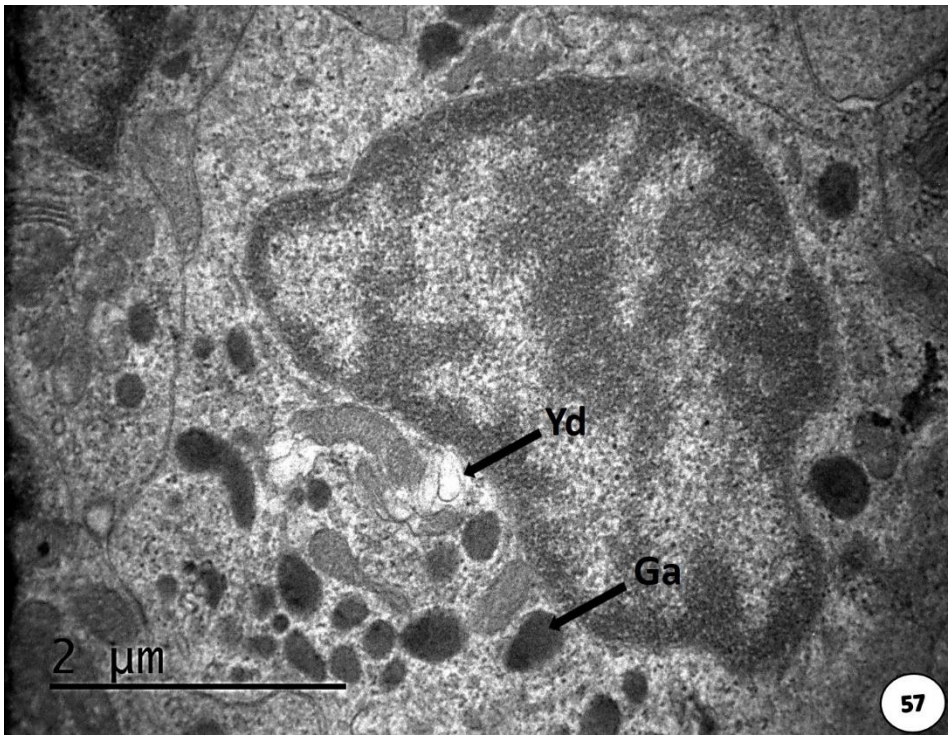
Şekil 4.55a. Kontrol (Grup I) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin Klorid hücresi (MRCs) yapısı: Klorid Hücresi (MRC), Klorid (MRCs) hücre çekirdeği (N), Mitokondri (Mt), Mikrotübüler hücre iskeleti (MHİ) (21. Gün).



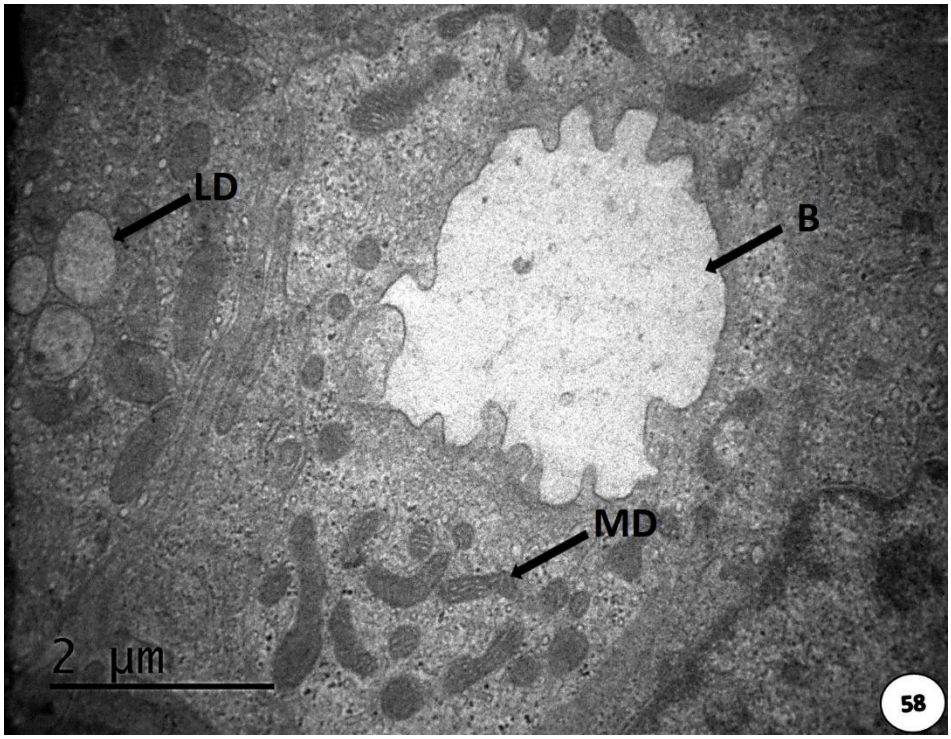
Şekil 4.55b. Aseton kontrol (Grup II) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin Klorid hücresi (MRCs) yapısı (21. Gün).



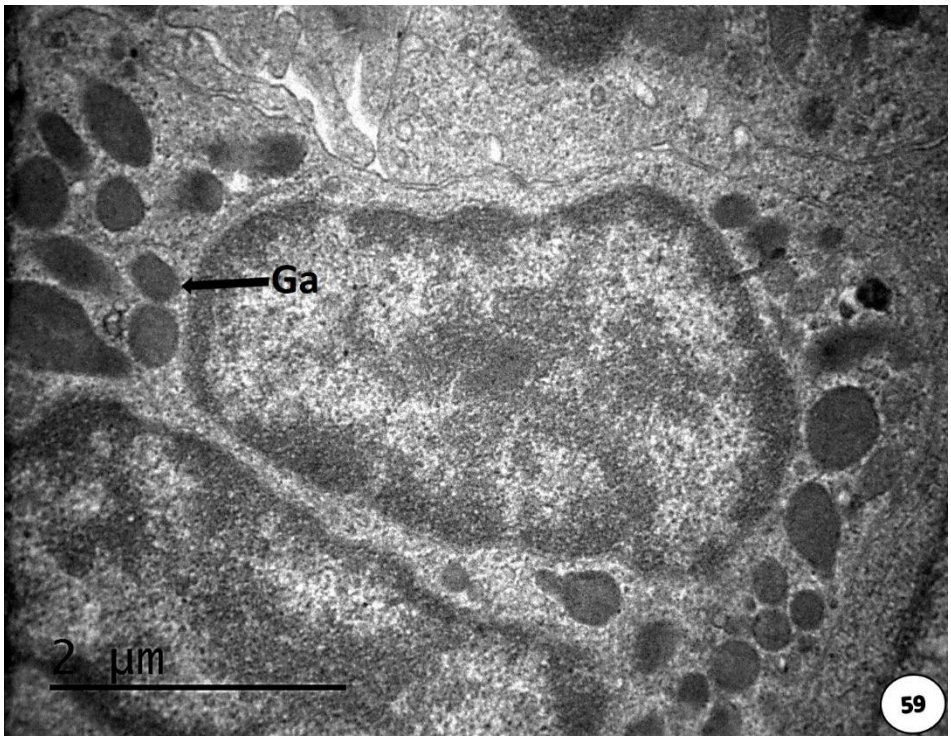
Şekil 4.56. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: MRCs'de vakuoler dejenerasyon (V).



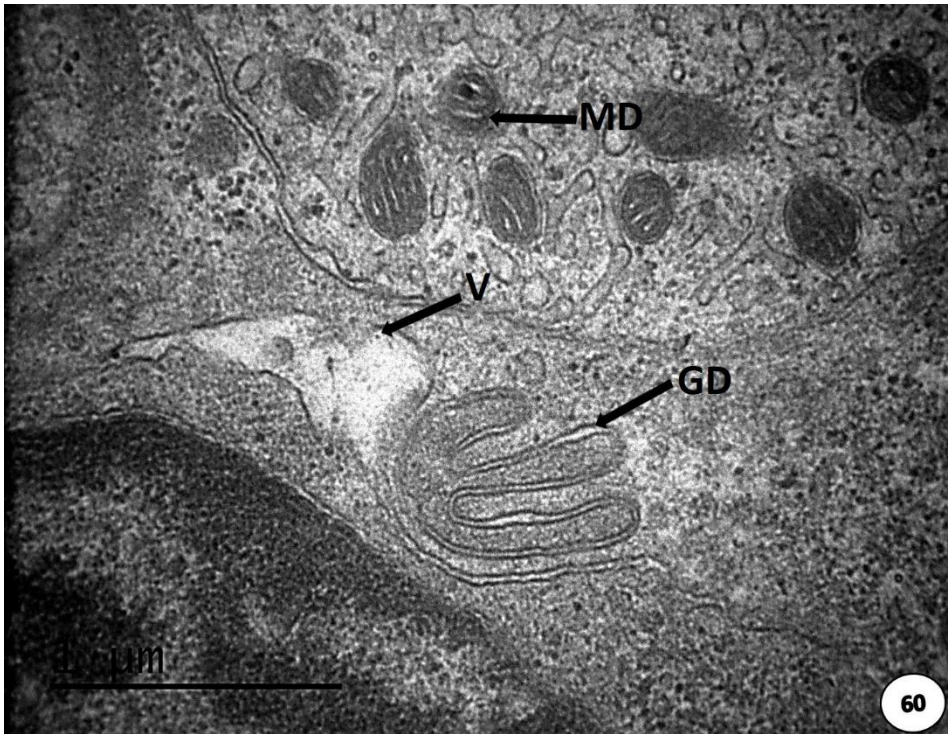
Şekil 4.57. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Mast hücresinde yağ dejenerasyonu (Yd), Mast hücresi granüllerinde azalma (Ga).



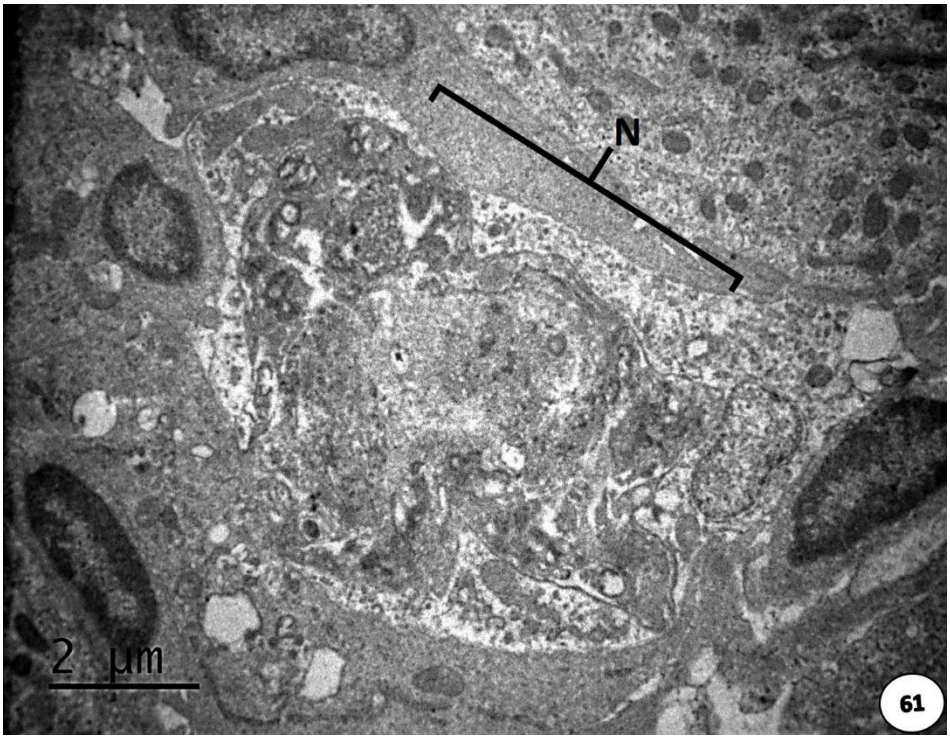
Şekil 4.58. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: MRCs'de bleblenmiş çekirdek (B), MRCs'de lizozomal dejenerasyon (LD), MRCs'de mitokondriyal deformasyon (MD).



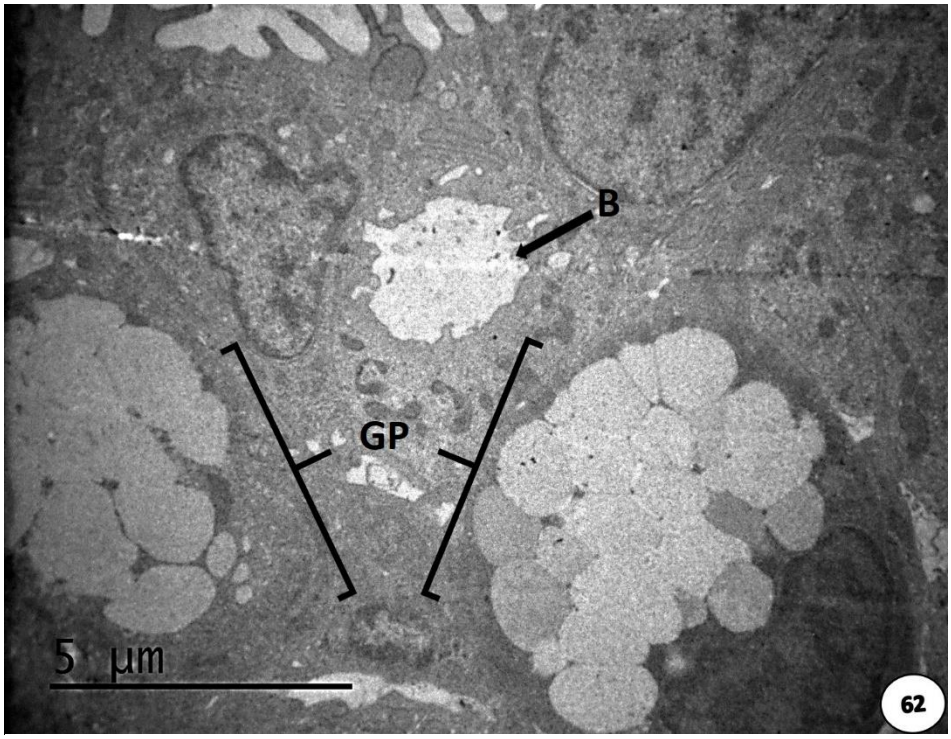
Şekil 4.59. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Mast hücresi granüllerinin sayısında artış (Ga).



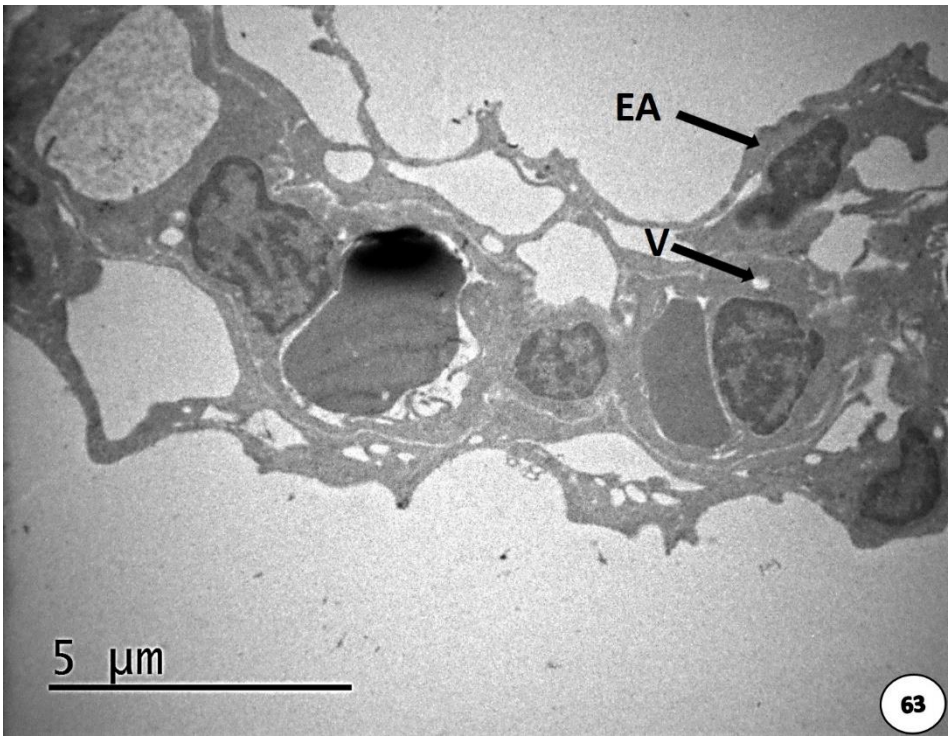
Şekil 4.60. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: MRCs Golgi zarında deformasyon (GD), MRCs'de mitokondriyal deformasyon (MD), MRCs'de vakuolizasyon (V).



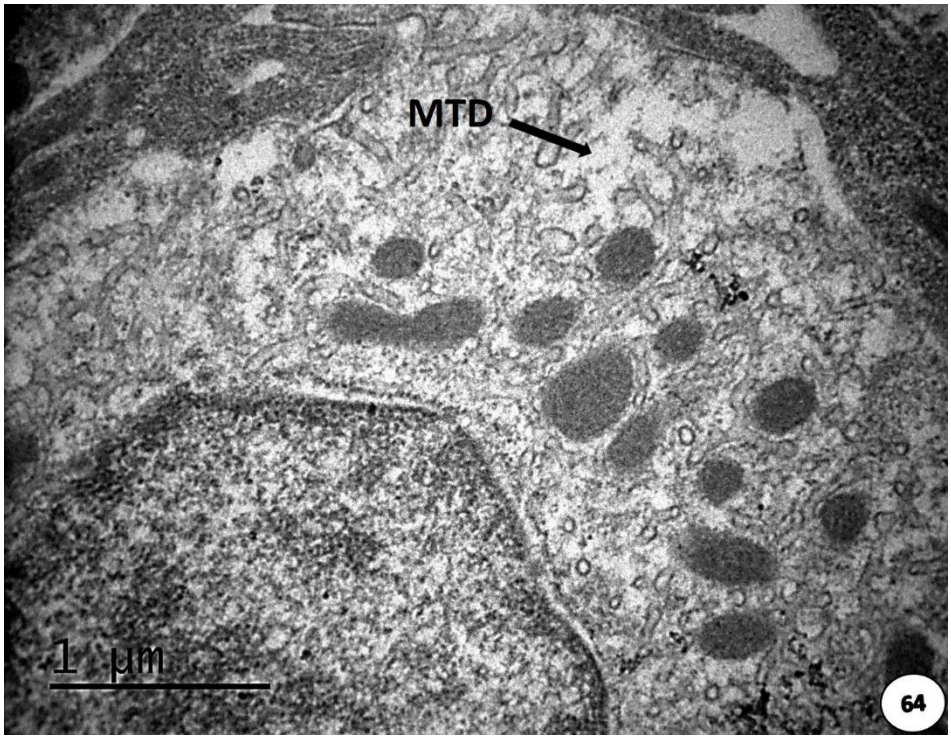
Şekil 4.61. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Nekroze hücre (N).



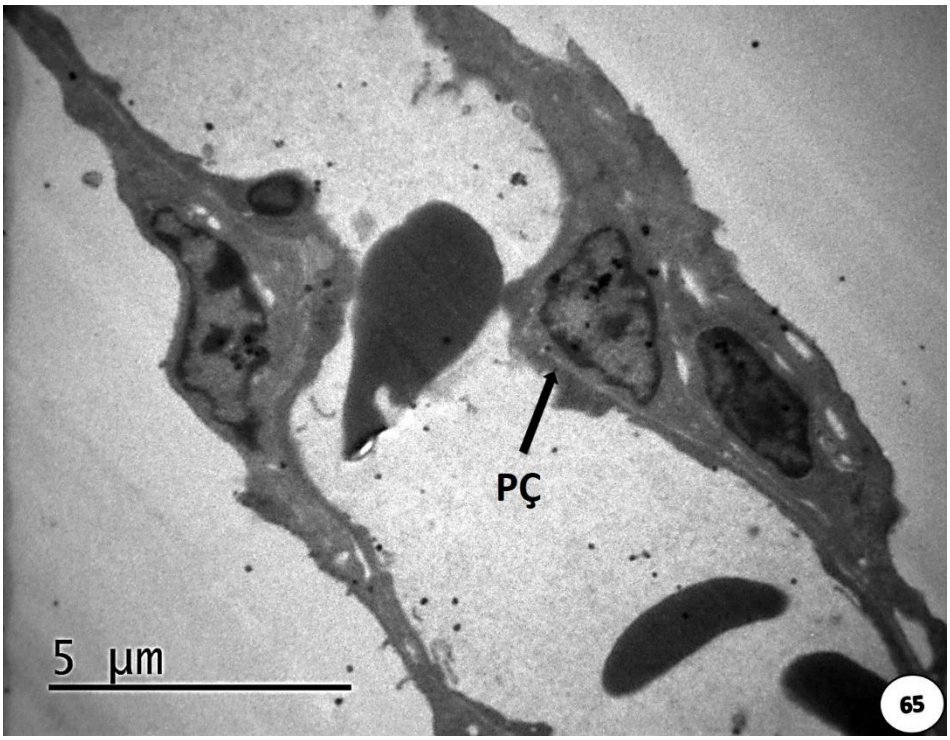
Şekil 4.62. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: MRCs'de bleblenmiş çekirdek (B), Goblet hücre proliferasyonu ve buna bağlı olarak aşırı mukus salgısı (GP).



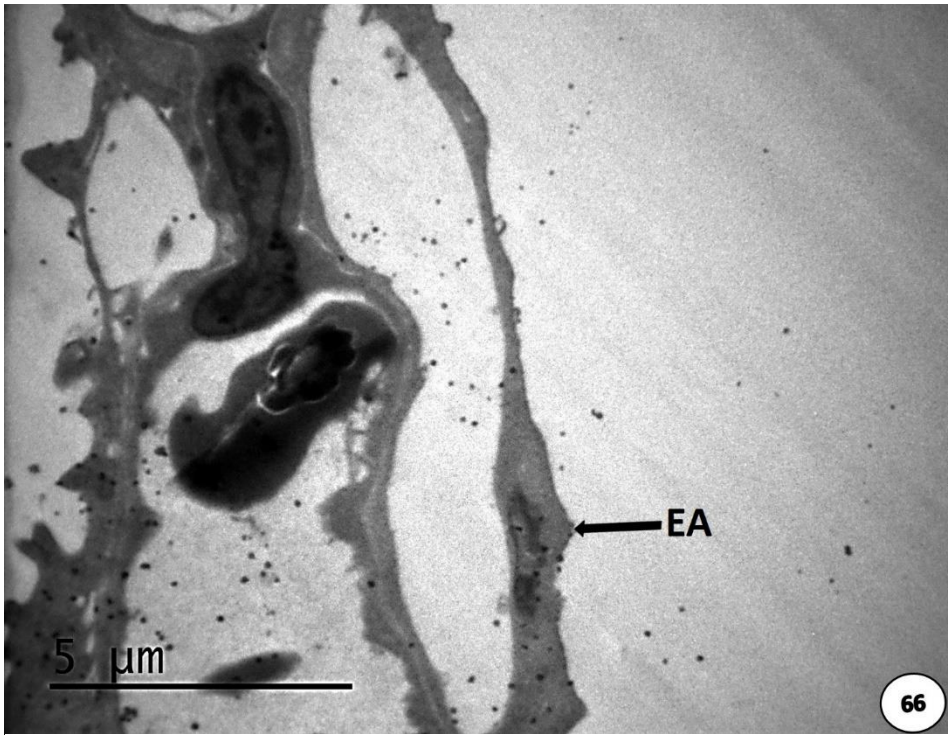
Şekil 4.63. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Sekonder lamellerde epitel ayrılması (EP), Pillar hücresinde vakuolizasyon (V).



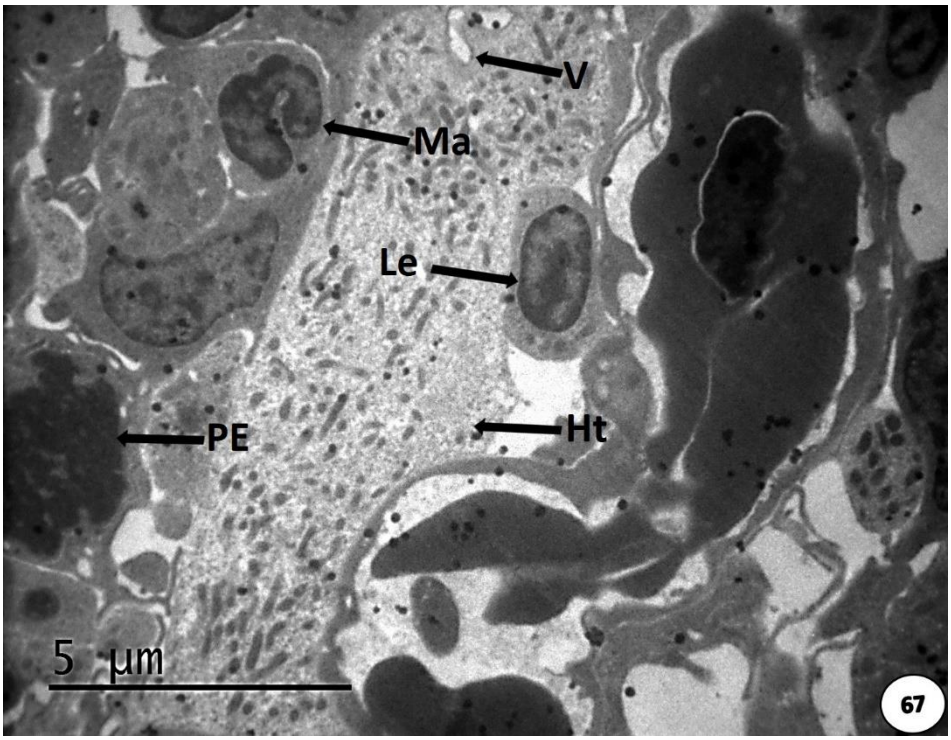
Şekil 4.64. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: MRCs'de mikrotübüler sistemde meydana gelen deformasyon (MTD).



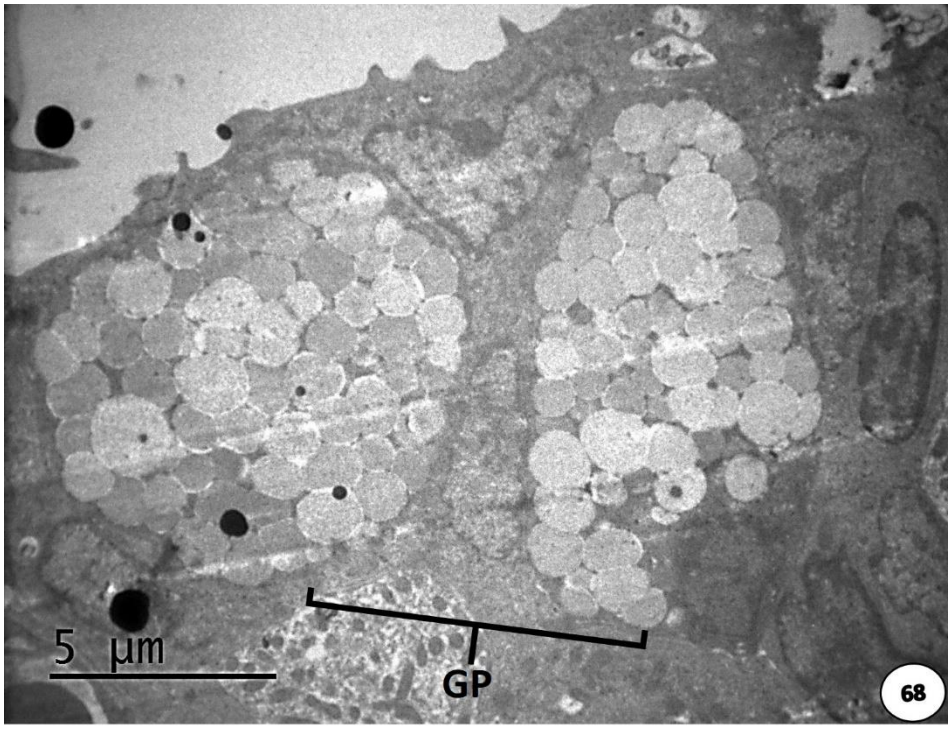
Şekil 4.65. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Pillar hücresinde çökme (PÇ).



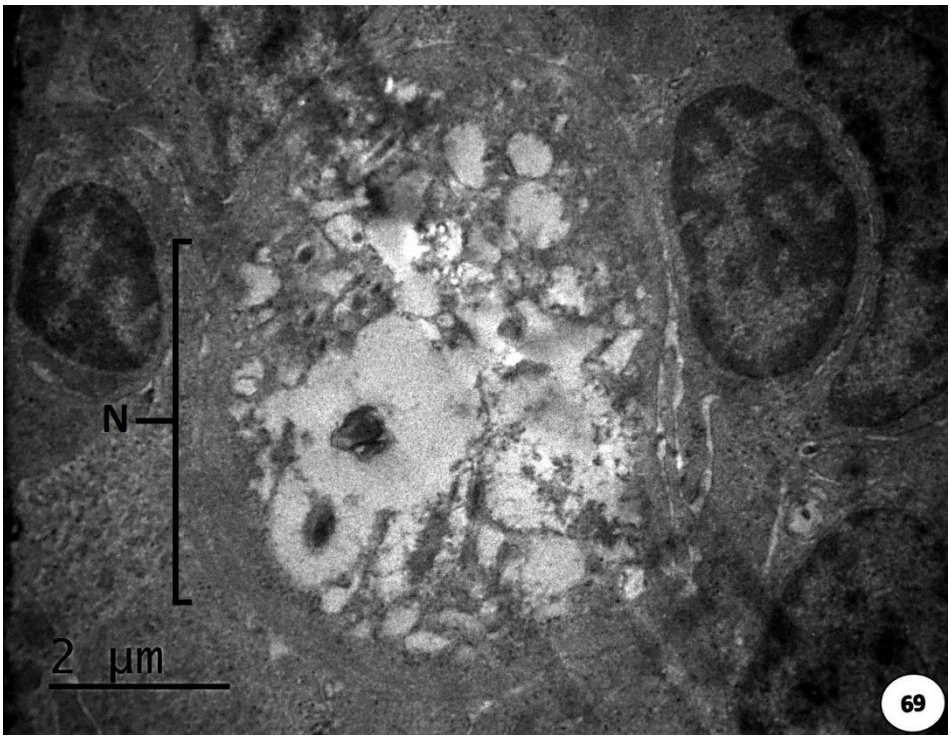
Şekil 4.66. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Sekonder lamellerde epitel ayrılması (EA).



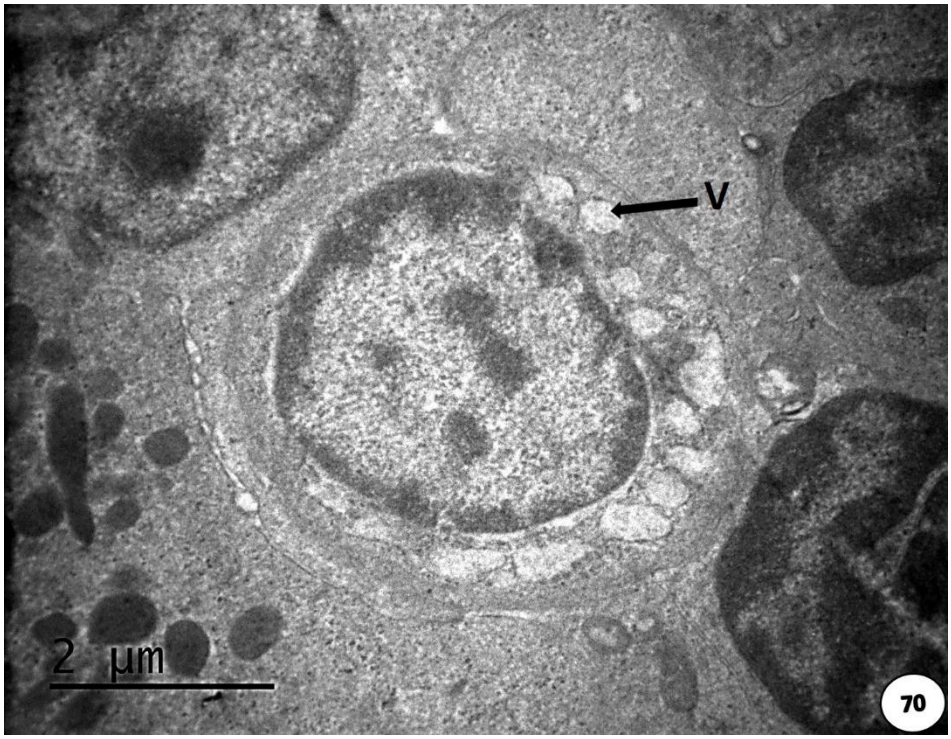
Şekil 4.67. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Piknotik çekirdekli doku içi farklılaşmamış epitel hücresi (PE), MRCs'de vakualizsyon (V), Makrofaj infiltrasyonu (Ma), lenfosit infiltrasyonu (Le), Hipertrofik MRCs (Ht).



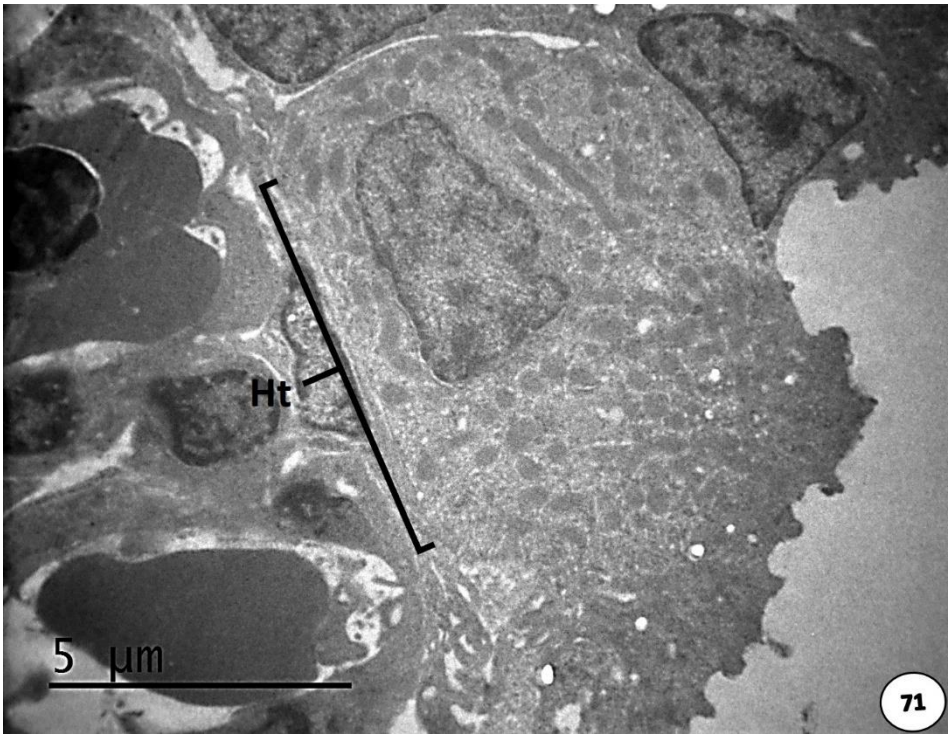
Şekil 4.68. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Goblet hücre proliferasyonu ve buna bağlı olarak aşırı mukus salgısı (GP).



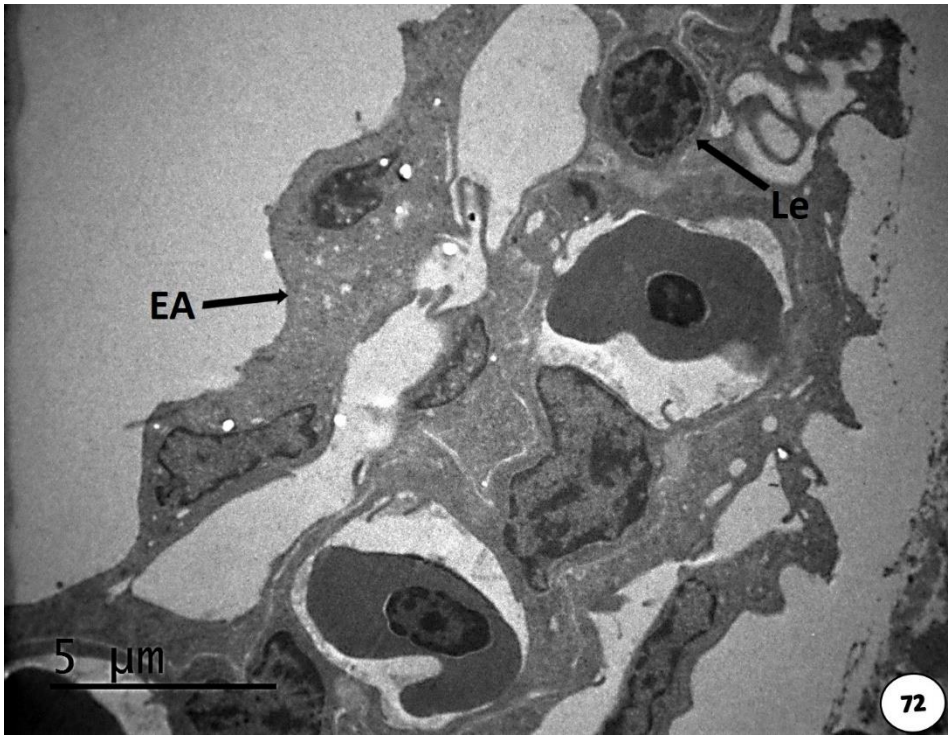
Şekil 4.69. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Nekroze hücre (N).



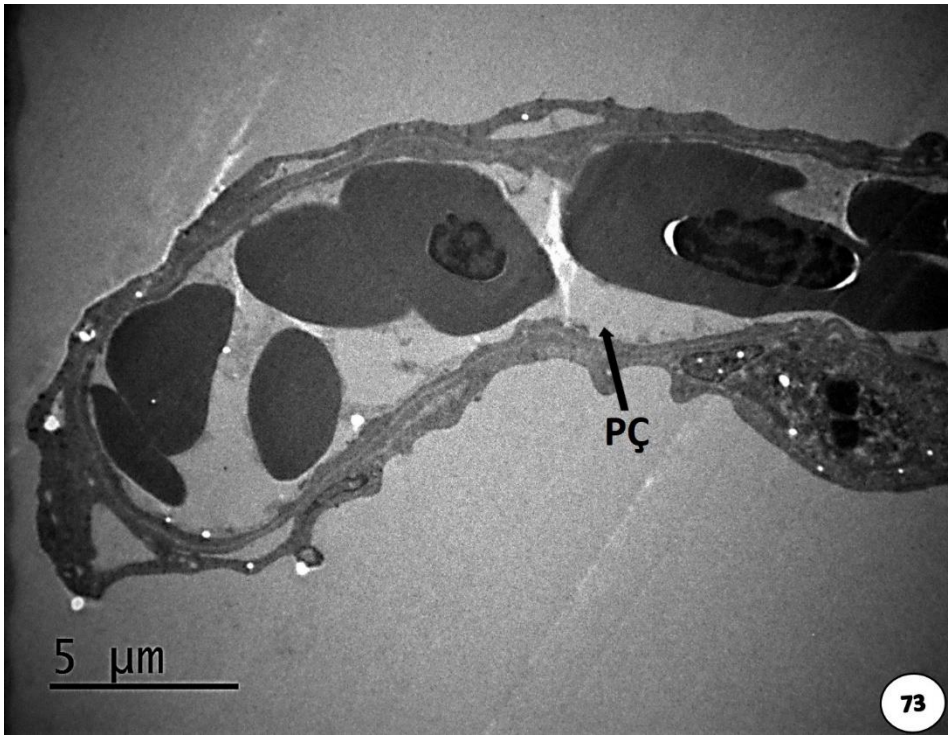
Şekil 4.70. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: MRCs'de vakuolizasyon (V).



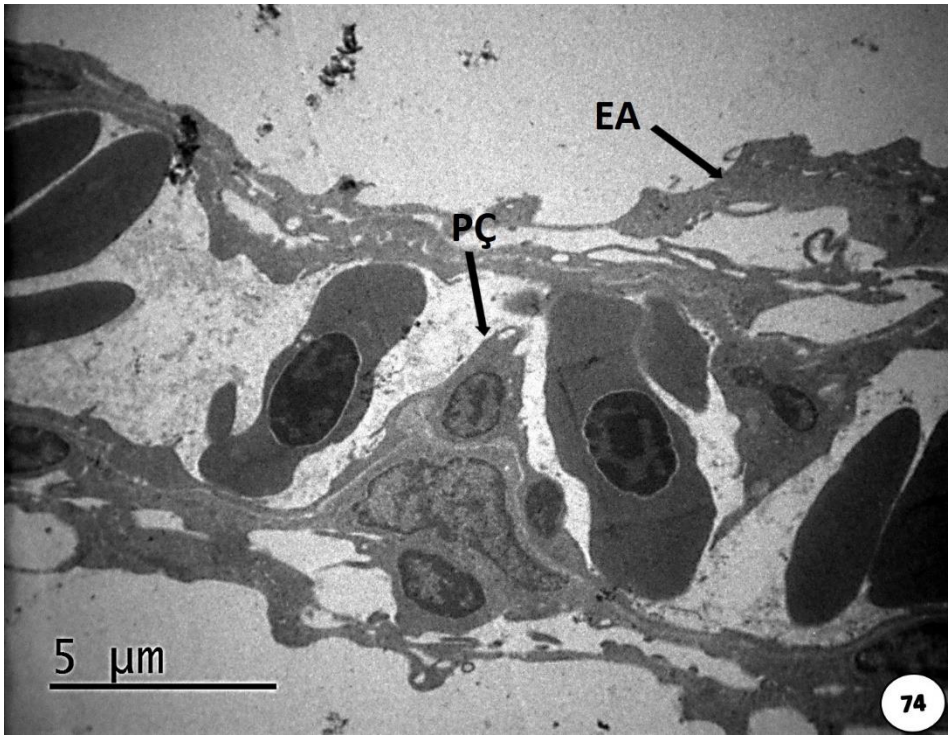
Şekil 4.71. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Hipertrofik MRCs (Ht).



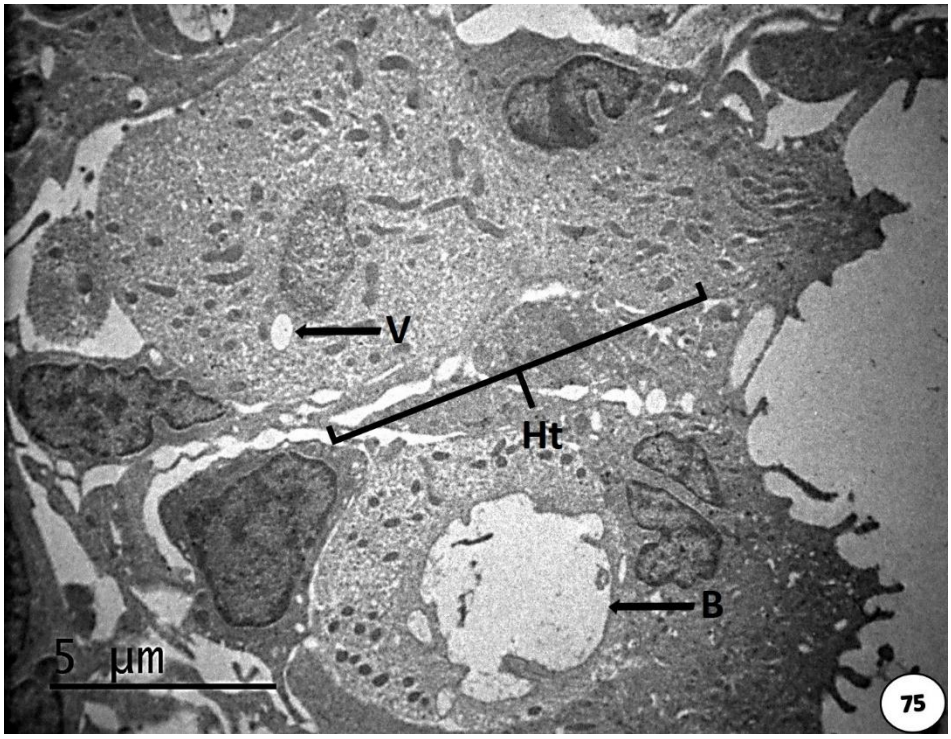
Şekil 4.72. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: sekonder lamellerde epitel ayrılması (EA), Lemfosit infiltrasyonu (Le).



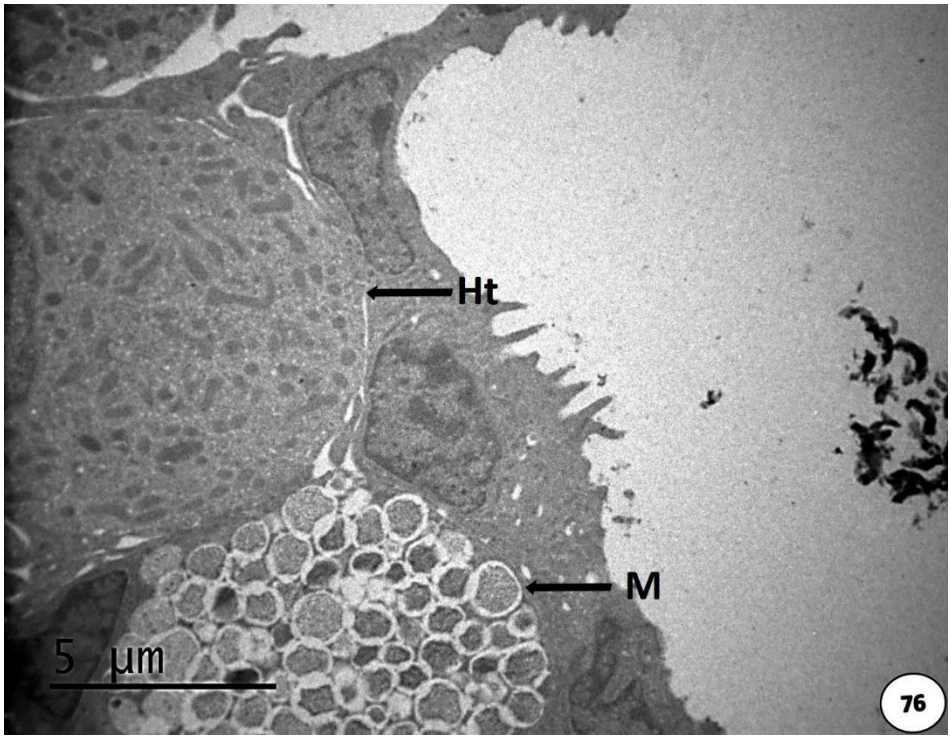
Şekil 4.73. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Pillar hücrelerinin çökmesine bağlı olarak kan sirkülasyonunun bozulması (PÇ).



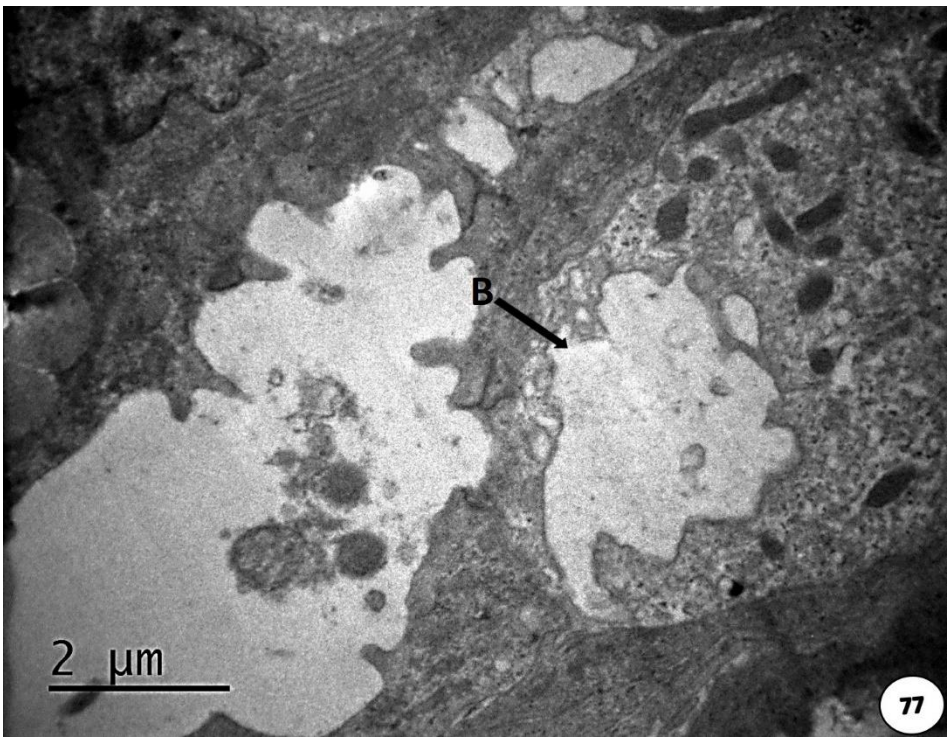
Şekil 4.74. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Sekonder lamellerde pillar çökmesi (PÇ), Sekonder lamellerde epitel ayrılması (EA).



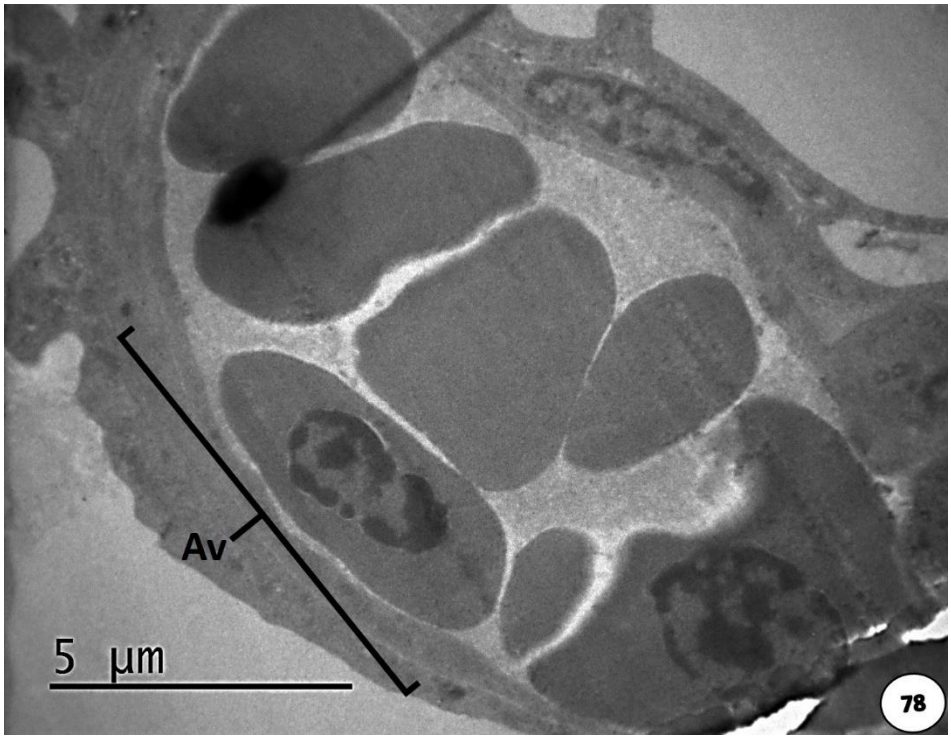
Şekil 4.75. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Bleblenmiş çekirdekli MRCs (B), Hipertrofik MRCs (Ht), MRCs de vakuolizasyon (V).



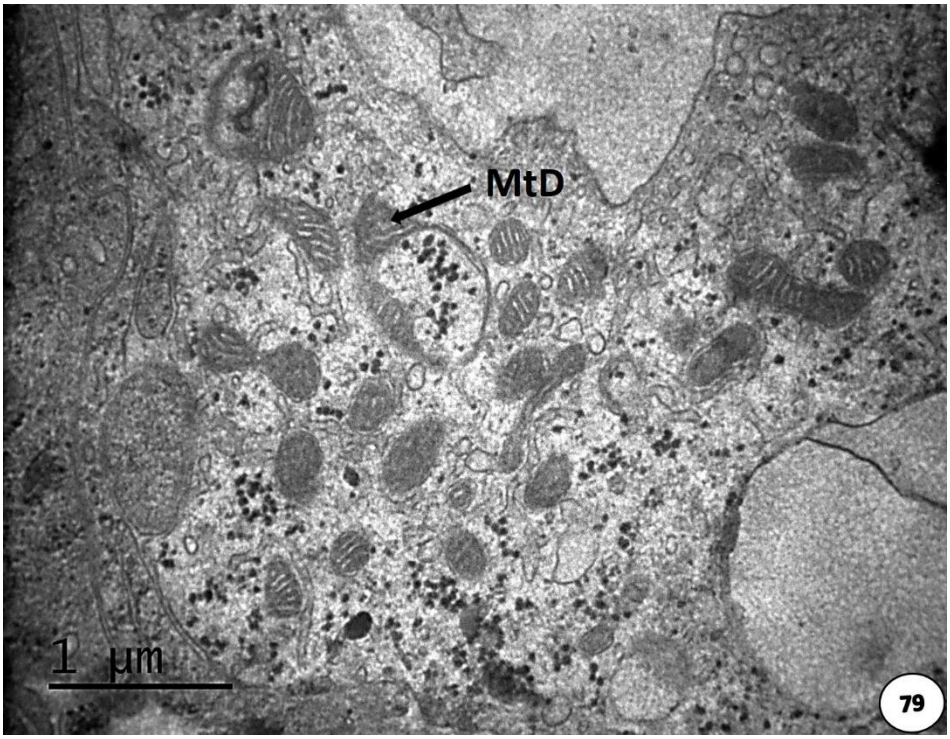
Şekil 4.76. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Hipertrofik MRCs (Ht), Goblet hücresinde aşırı mukus salgısı (M).



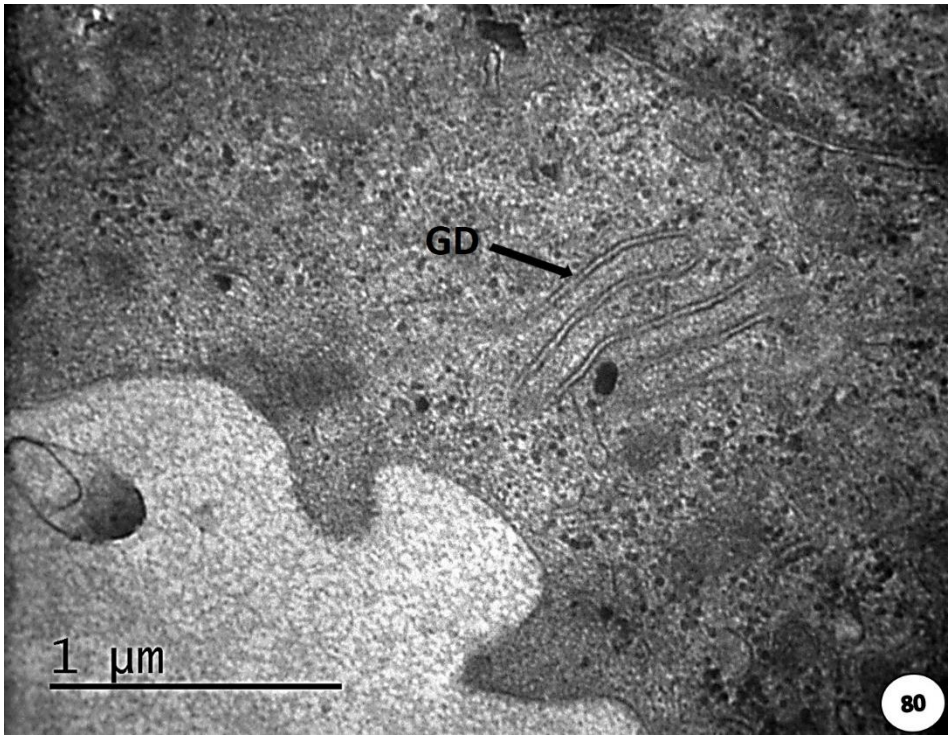
Şekil 4.77. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Bleblenmiş çekirdekli MRCs (B).



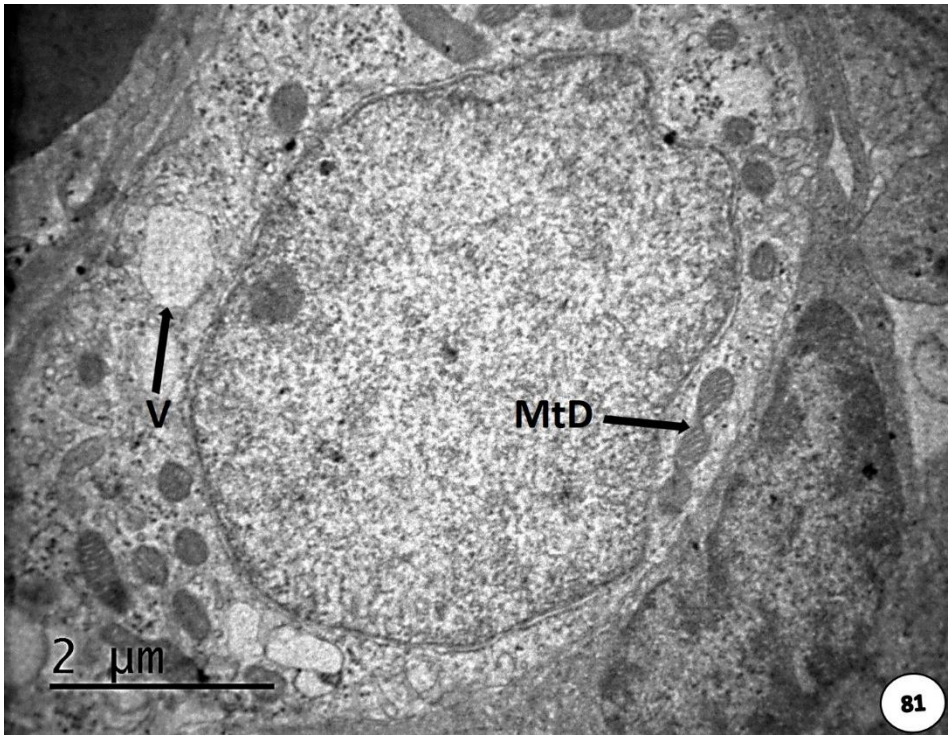
Şekil 4.78. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Sekonder lamelde pillar hücrelerinin çökmesinden kaynaklanan anevrizma (Av).



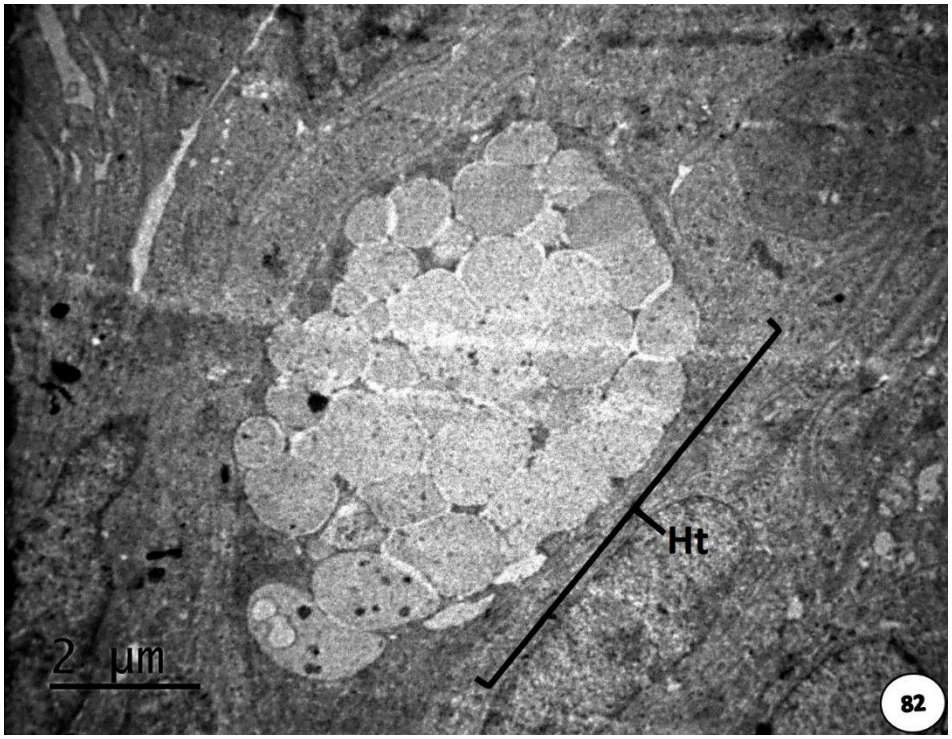
Şekil 4.79. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: MRCs mitokondri kristalarında deformasyon (MtD)



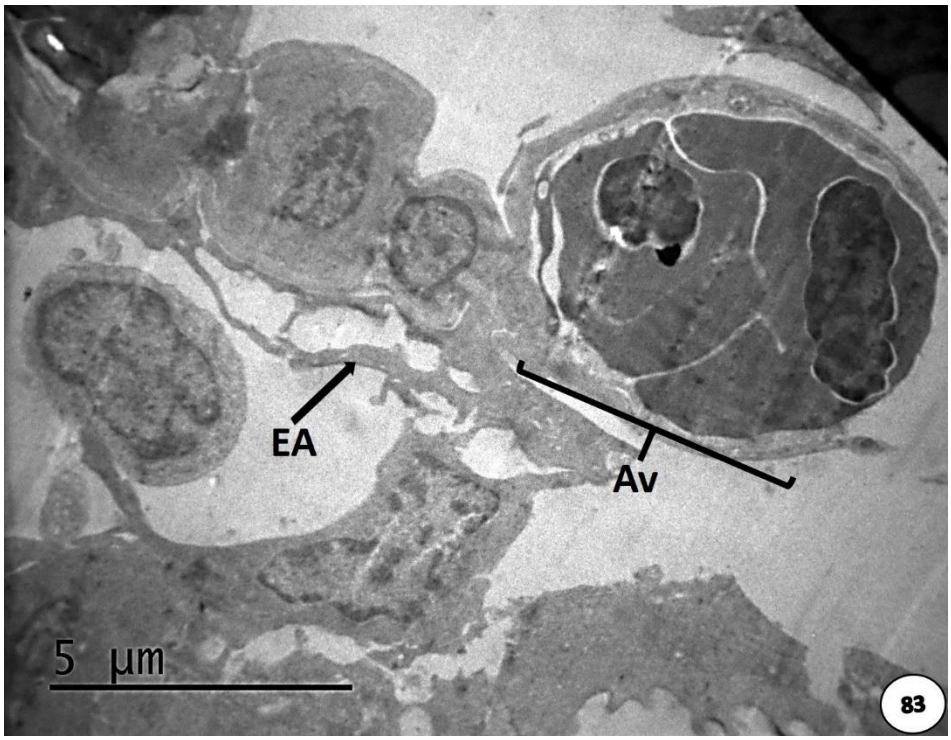
Şekil 4.80. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: MRCs Golgi cisimciğinde deformasyon (GD).



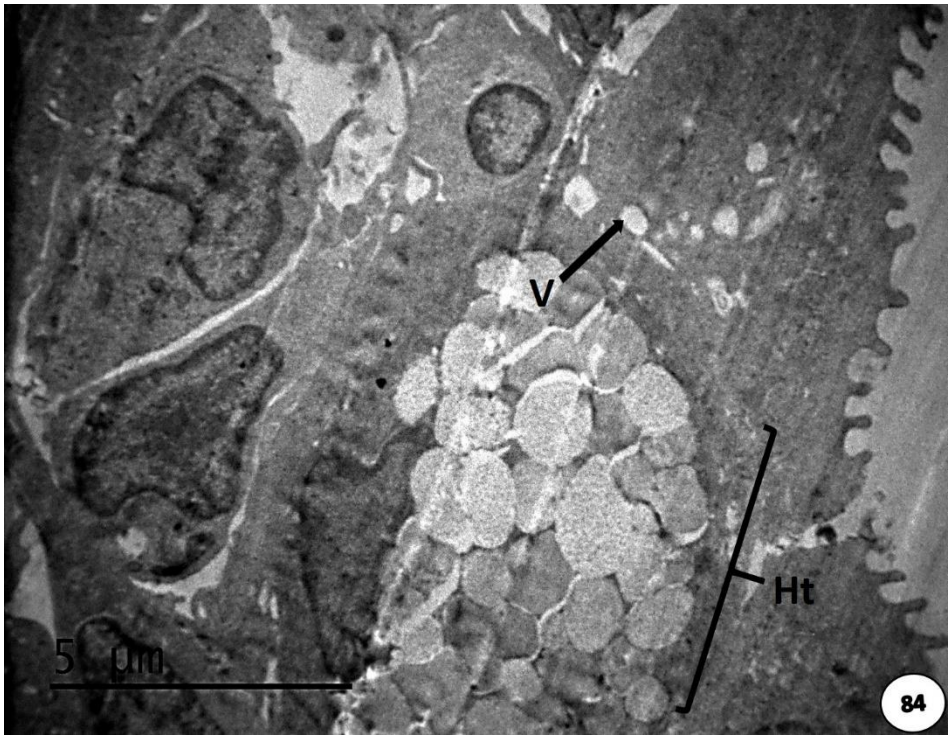
Şekil 4.81. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: MRCs de vakuolizasyon (V), MRCs mitokondri kristalarında deformasyon (MtD).



Şekil 4.82. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Goblet hücresinde hipertrofi ve aşırı mukus salgısı (Ht).



Şekil 4.83. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: sekonder lamellerde epitel ayrılması (EA), anevrizma (Av).



Şekil 4.84. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Goblet hücresinde hipertrofi ve aşırı mukus salgısı (Ht), gaz alış-verişinden sorumlu apikal epitel hücresinde vakuolizasyon (V).

4.2.2. Böbrek

Böbrekler ksenobiyotik metabolizmasında ve atılmasında önemli bir rol oynamaktadır (Hinton ve ark. 1992). Bu organ postbranşiyal kanın büyük bir kısmını aldığı için renal lezyonlar çevresel kirlenmenin belirlenmesinde iyi birer indikatördürler (Hinton ve Laurent 1990, Bravo ve ark. 2005). Literatürde, çevresel etki değerlendirme çalışmalarında, bir biyobelirteç olarak, çevresel kirleticilerin maruziyetine bağlı olarak bu organlarda meydana gelen ultrastrüktürel tepkiler ile ilgili çok az çalışma mevcuttur (Velmurugan 2011).

Balıklarda bulunan baş böbrek balıklara özeldir ve yapısında endokrin ve salgı dokularını, hematopoetik-lenfatik dokuları bulundurur (Roberts 1989). Balıklarda böbrekler, hematopoetik ve salgı kısımları olmak üzere iki farklılaşmış dokudan oluşmuş birleşik bir organdır. Böbreklerdeki hematopoetik kısım memelilerin kemik iliğindeki gibi, balıkların temel hemtopoetik bölgesidir ve kan üretiminden sorumludur (Roberts 1981). Bu bölge hücrelerinde, fonksiyonel olarak memelilerin lenf nodlarına benzeyen iyi gelişmiş fagositik retikulumlar bulunmaktadır (Roncero ve ark. 1988). Balık böbreklerindeki renal korpuskul (podositler, endotelyal hücreler ve basal lamina) ile distal ve proksimal tübüllerin anteriyor ve posteriyor kısımları (sitoplazma, çekirdek, ER, golgi cisimciği, mitokondri, hücre mikrovilusları, hücre gövdeleri, bazal lamina, veziküller ve vakuoller ve depo ürünler) fonksiyonel yapılar olarak değerlendirilmektedir (Triebskorn ve ark. 2004).

Bir böbreğin nefronu fonksiyonel olarak filtrasyonun yapıldığı kısım, renal korpuskul ya da glomerulus ve geri emilimin gerçekleştiği segmentli tübüler kısım olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Glomeruluslarda başlıca dört hücre tipi görülmektedir. Bunlar: glomerular endotelyal hücreler, mezengiyal hücreler, periyetal epitel hücreleri ve podositlerdir (Scott ve Quaggin 2015). Böbrek glomerulus kapillerinin dış duvarları, bazal membran boyunca epitelyal podositlerce sarılmıştır. Bu podositler özelleşmiş perivasküler hücrelerdir ve bazal membrana pedisel ya da ayak uzantıları ile bağlıdır. Çekirdekleri yuvarlak ya da hafif lobüler yapıdadır ve çekirdek nerdeyse hücrenin tamamını kaplamaktadır (Oulmi ve ark. 1995). Bu hücrelerin sitoplazmasında az sayıda mitokondri bulunur ve ER-Golgi sistemleri iyi gelişmiştir. Glomerulus kapiller boşluğunda ise çok sayıda endotelyal hücrelere ait boşluklar bulunmaktadır (Churg ve

Grishman 1975) (Şekil 4.85a ve 4.85b). Son yapılan çalışmalar endotelyal hücrelerin, negatif yüklü yüzeylere sahip olmaları sayesinde, renal filtrasyonda aktif rol oynadığını göstermiştir (Curry ve Adamson 2012).

Endotelyal hücreler, podositler ve glomerular bazal membran, seçici olarak kan bileşenlerini süzen, primer üriner filtrat seyreltiğini üreten gelişmiş üç katlı glomerular süzme bariyerini oluştururlar (Thomson ve Blantz 2010). Bu bariyer, silli yapısı ve negatif yüklü özelliği sayesinde filtrasyon alanını daha dar ve sınırlayıcı hale getirir ve böylece süzülme işleminin verimini arttırır. Yapılan çalışmalarda, bu bölgede meydana gelen enzimatik hasarların kanda albümin seviyesini arttırdığını ve endotelyal yüzeyde aniyonik bölgelerin kaybına neden olduğu bildirilmiştir (Jeansson ve Haraldsson 2003, Meuwese ve ark. 2010, Dane ve ark. 2013). Mezangiyal hücrelerin oluşturduğu mezangiyum, glomerular kapillere yapısal bir desteklik sağlar. Pariyetal epitel hücreler ise su geçirmez bir yapı olan Bowman kapsülünü oluştururlar. Primer üriner filtrat, Bowman kapsülünün içinde toplanır ve proksimal, distal tübül ve en sonunda toplama kanalı vasıtasıyla boşaltılır (Scott ve Quaggin 2015).

O. niloticus böbreklerinde bulunan renal tübüller ise ince ve kısa boyun segmentlerine sahiptirler ve tek katlı, uzun silli epitel hücreleri ihtiva ederler. Bu canlıların proksimal tübüllerinde (segment I) uzun, silli, bazal konumlu ve hafif heterokromatin çekirdekleri olan silindirik hücreler bulunur ve tübüler lümende sıkı mikrovilus ağı oluştururlar (fırça kenar) (Şekil 4.86a ve 4.86b) (Hadi ve Alwan 2012). Proksimal tübül hücrelerinde, çok sayıda mikrotübül, küçük elektron-dens ve elektron-lüsen tübüler kesecikler, apikal bir katman oluştururlar. Hücrelerin apikalinda bulunan çok sayıda elektron-lüsen veziküller ve lizozom, bu hücrelerde yüksek miktarda endositotik aktiviteyi göstermektedir (Oulmi ve ark. 1995). Bu hücrelerde peroksizom oldukça seyrektir.

Böbreğin distal segmenti ise geniş, kısmen berrak silindirik hücrelerden oluşur. Bu hücrelerde fırça kenar ya oldukça indirgenmiştir ya da tamamen yoktur (Peebua ve ark. 2006). Distal segment dar bir lümen ihtiva etmesiyle ve küçük yarıçaplı tübülleriyle karakterize olmaktadır. Distal segment hücreleri tübüler lümene çekirdeklerinin düzensiz bir kısmıyla çıkıntı yapar. Kübik distal tübül hücrelerinin armut şekilli çekirdekleri, hafif heterokromatin yapılı ve merkezidir (Oulmi ve ark. 1995). Bu hücrelerin

sitoplazmalarında çok sayıda mitokondri bulunur ve golgi alanları çekirdeğe yakın konuşlanmıştır. ER sistemleri ise granüllü ve granülsüz ER lerin ikisini de ihtiva eder. Nefronların renal tübülleri ve toplama kanalı, reabsorsiyon ve salgılama ile üriner filtratın komposizyonunun ve konsantrasyonunun ayarlanmasına yardımcı olur (Peti-Peterdi ve Sipos 2010).

4.2.2.1. Carbaryl Grubunda (Grup III) Belirlenen Sitopatolojik Bulgular

Yaptığımız çalışmada 850 µg/L Carbaryl'e 7 gün boyunca maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbrek dokularının ultrasütrüktürel incelemesinde proksimal tübül epitelinde aşırı vakuolleşme, hücrenin tübüler yapısında bozulma ve mitokondrilerde şişme belirlenmiştir (Şekil 4.87). Aynı zamanda bu hücrelerde piknotik çekirdek gözlenmiştir (Şekil 4.88).

14. günün sonunda hücrelerdeki patolojinin şiddeti artmıştır. Proksimal tübül epitel hücrelerinde nekroza bağlı olarak mitokondrilerde krista deformasyonu (Şekil 4.89) ve sitoplazmada yağ dejenerasyonu gözlenmiştir (Şekil 4.90).

21. günün sonunda hücrelerdeki mitokondrilerde deformasyon devam ederken nekroze bölgeler görülmeye başlanmıştır (Şekil 4.91). Proksimal tübül hücrelerinde yağ dejenerasyonunun şiddeti artmıştır. Aynı zamanda tübül epitel hücresinde mitokondri deformasyonuna paralel olarak hücredeki mikrotübül yapısı da bozulmuştur (Şekil 4.92).

4.2.2.2. Diazinon Grubunda (Grup IV) Belirlenen Sitopatolojik Bulgular

280 µg/L Diazinon kosantrasyonuna maruz kalan canlıların 7. günde böbrek proksimal tübül epitel hücresinde, aşırı büyük vakuol ve piknotik çekirdek görülmektedir (şekil 4.93). Aynı zamanda hücrelerin mitokondrilerinde şişme ve dezmozomlarda bozulma gözlenmiştir (Şekil 4.94).

14. günde Diazinon'a maruz kalan canlıların glomerulus yapısında patolojik bulgular belirlenmiştir. Glomerulus pedisellerinde vakuolizasyona bağlı deformasyonlar görülmüştür (Şekil 4.95). Aynı zamanda podosit hücre mikrotübül yapısında hücrenin şişmesine bağlı olarak deformasyonlar ve vakuolizasyon belirgindir (Şekil 4.96).

21. günde proksimal tübül epitel hücre ER'lerinde deformasyon görülürken bu bölgelerde deforme olmuş mitokondriler ve hücre çekirdeği dikkat çekmektedir (Şekil 4.97).

4.2.2.3. Lambda-cyhalothrin Grubunda (Grup V) Belirlenen Sitopatolojik Bulgular

0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e 7 gün boyunca maruz kalan canlıların glomerulus podositlerinde vakuolleşme ve pedisellerde deformasyon görülmektedir (şekil 4.98). Ayrıca aynı süre sonunda proksimal tübül epitel hücresinde vakuolizasyon ve dezmozomlarında deformasyon belirlenmiştir (Şekil 4.99).

14. günün sonunda proksimal tübül hücresinde hipertrofi, sitoplazmada aşırı vakuolleşmeye bağlı deformasyonlar, piknotik çekirdek ve fırça kenarda deformasyon tespit edilmiştir (şekil 4.100 ve Şekil 4.101).

21. günde dokuda nekroze bölge tespit edilmiştir (Şekil 4.102). Ayrıca fırça sınırda (Brush Border) deformasyon, proksimal tübül epitelinde vakuolizasyon ve mitokondrilerde deformasyon görülmektedir (Şekil 4.103).

4.2.2.4. Atrazin Grubunda (Grup VI) Belirlenen Sitopatolojik Bulgular

0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin 7 gün sonunda proksimal tübül hücrelerinde glomerulus endotel hücresinin bazal laminadan ayrılması, vakuolizasyon ile lizozomlarda dejenerasyon ve bununla birlikte atrofik proksimal tübül epitel hücresi belirlenmiştir (Şekil 4.104 ve 4.105).

14. günde proksimal tübül hücresinde mitokondri deformasyonu ve vakuolizasyon görülürken sitoplazmada vakuoler dejenerasyon belirlenmiştir. (Şekil 4.106 ve 4.107).

21. günde ise proksimal tübülde nekroz, morfolojik olarak deforme olmuş ve piknotik çekirdek görülürken (Şekil 4.108); bu hücrelerde mitokondri, ER deformasyonu ve lizozomal dejenerasyon belirlenmiştir (Şekil 4.109).

Böbrek ultrasütrüktürü kirleticilerin etkilerinin belirlenmesinde sıklıkla kullanılırlar (Rabitto ve ark., 2005). Böbrekler balıklarda post branşiyal kanın büyük bir kısmını aldıkları için çevrede toksik bir ajan varsa böbreklerde patolojik lezyonların olabileceği tahmin edilebilir (Bravo ve ark. 2005).

Balıklarda, yüksek omurgalılarda olduğu gibi, böbrekler su ve elektrolit dengesinin ve hemostasinin sağlanmasıyla ilgili önemli fonksiyonlara sahiptir (Ortiz ve ark. 2003). Böbrekler amonyum, üre ve keratin gibi nitrojenli atıkların metabolizmadan uzaklaştırılmasını sağlar. Bu bağlamda, balıkların pestistler gibi kimyasal ajanlara maruz

kalması ve bunun sonucunda böbreklerin tübüller epitelinde ve glomeruluslarda meydana getirdiği histopatolojik ve sitopatolojik değişiklikler, bu nitrojenli atıkların uzaklaştırılmasını aksatabilir (Teh ve ark. 1997).

Kimyasal ajanlara maruz kalan balıklarda meydana gelen stres, balıkların biyolojik organizasyonunun birçok aşamasında kanıtlanmıştır. Diazinon'a maruz bırakılmış *O. mykiss* bireylerinin böbreklerinde, glomeruluslarda atrofi ve buna bağlı olarak Bowman kapsülünde genişleme, tübüler lümende daralma, renal tübüllerde dejenerasyon ve nekroz gözlenmiştir (Banaee ve ark. 2013). Aynı araştırmacılar renal tübül epitel hücrelerinde vakuolizasyon olduğunu ve bu hücrelerin hipertrofik bir yapı kazandığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu glomerular ve tübüler lezyonların, Diazinon metabolizması sonucu artan reaktif oksijen türevlerinin hücresel membranda lipid peroksidasyonuna sebep olmasından kaynaklandığını öne sürmüşlerdir.

Lauren ve ark (1989), bir antibiyotik olan fumagilin ile beslenen *O. Mykiss* bireylerinin böbreklerinde tübüler deformasyon, eozinofilik, proteinli intratübüler yapılar ile birlikte hiyalin damlacıkları ve hemosiderin, melanin benzeri intratübüler depozitlerde artış rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, hücrede hiyalin damlacıklarının birikmesinin, glomerular hasar sonucu üreden kaybolan plazma protreinlerinin reabsorbsiyonu sonucu meydana geldiğini bildirmişlerdir. Bucher ve Hofer (1993) ise proksimal tübüllerin epitel hücrelerinde hiyalin damlacıklarının birikmesini, bozulmuş glomerular filtrasyonun ya da amino asitlerin ve proteinlerin ultrafiltrattan reabsorbsiyonunu aktive etmesine neden olan hücre hemostasisinde genel bir bozulmanın sonucu olduğunu açıklamışlardır. İntratübüler yapıların oluşumu ise tübül hücrelerinin hasar görmesinden kaynaklanmaktadır (Lauren ve ark. 1989).

Renal korpuskul (glomeruluslar), distal ve proksimal tübüllerin anteriyör ve posteriyör kısımları fonksiyonel bölgeler olarak araştırılmıştır (Triebskorn ve ark. 2004). Yapılan bir çalışmada heksaklorbitadine maruz bırakılmış akvaryum balıklarının böbrek dokularında sitoplazmik vakuoller gözlenmiştir (Reimschuessel ve ark. 1989). Toksikantlara maruz kalan balıkların proksimal tübüllerinde anormal morfolojiye sahip mitokondriler rapor edilmiştir (Thomas 1990). Atrazin'e maruz bırakılan bazı balık türlerinin böbreklerinde hiyalin dejenerasyonu gözlenmiştir (Fischer Scherl ve ark. 1991). Yine Atrazin'e maruz bırakılan bazı balık türleri yavrularının böbrek proksimal tübül

hücrelerinde, anormal morfolojiye sahip mitokondriler ve ER deformasyonu rapor edilmiştir (Bravo ve ark. 2005).

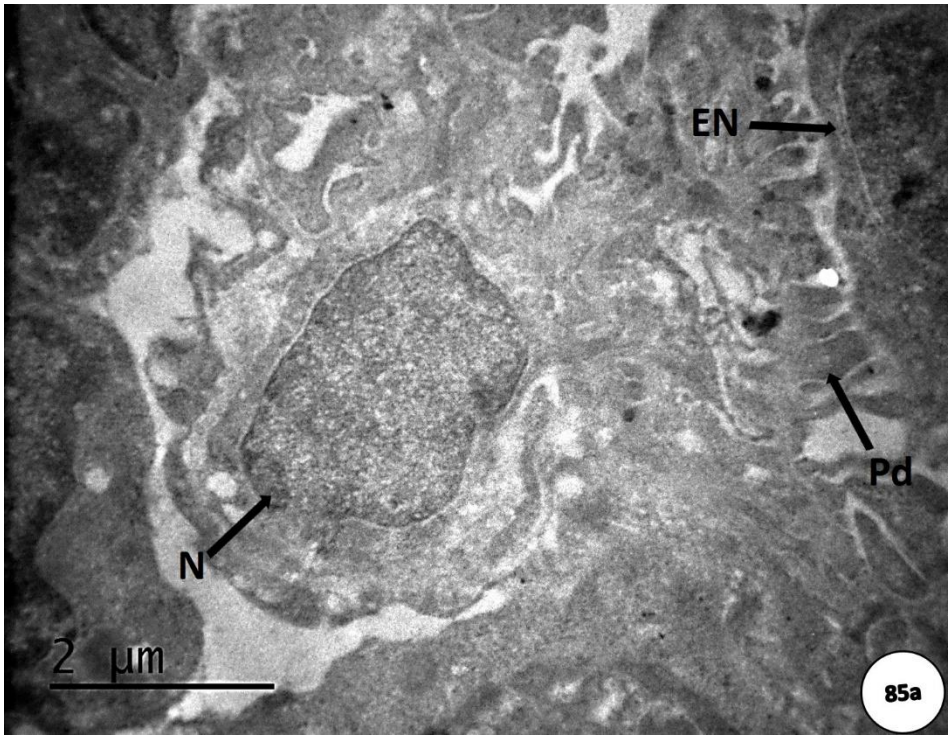
Tübüler hücrelerde görülen atrofi ve bunun bir sonucu olarak hücrelerin total ya da çekirdek alanında meydana gelen azalmalar kağıt fabrikası atıklarına maruz kalmış *Esox lucius* ve *Perca flavescens* türlerinde ve PCB'ye maruz bırakılmış *O. mykiss* ve *O. mossambicus* bireyelerinin böbrek dokularında rapor edilmiştir (Hontela ve ark. 1997, Quabius ve ark. 2000). Araştırmacılar bu patolojinin, çevresel kirleticilere uzun süre maruz kalmanın bir sonucu olarak canlılarda meydana gelen endokrin bozukluğundan kaynaklandığını savunmuşlardır. Aynı zamanda tübüler hücre hiperplazisi ve buna bağlı olarak hücre ve çekirdek alanında meydana gelen atışlar ağır metallere maruz bırakılmış *Salmo trutta* ve yine PCB'lere maruz bırakılmış *Polyodon spathula* bireylerinin böbreklerinde de gözlenmiştir (Norris ve ark. 1997, Gundersen ve ark. 2000). Araştırmacılar bu değişimin de tıpkı atrofide olduğu gibi balıkların endokrin sistemlerinde meydana gelen bozulmadan kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Giari ve ark. (2008), yaptıkları bir çalışmada *Dicentrarchus labrax* (L.) bireylerinin solungaç, karaciğer, böbrek ve bağırsak dokuları üzerine civanın etkisini incelemişler ve bu ağır metalin bu canlıların renal tübül hücrelerinde mitokondrilerde ve ER sisternalarında şişmeye neden olduğunu tespit etmişlerdir. Yaptığımız çalışmada da gözlemlediğimiz bu patoloji hücrelerin membranlarında transport proteinlerinde meydana gelen inhibisyondan ve aşırı osmaregülasyon faaliyetlerinden kaynaklanmış olabilir (Ballatori ve Boyer 1996). Lizozomal dejenerasyon yada lizozomların aşırı çoğalması ise balıkların birçok kirletici kimyasala maruz kalması sonucu ortaya çıkan yada ağır metallerin meydana getirdiği tipik bir patoloji olarak değerlendirilmektedir (Braunbeck 1998, Thophon ve ark. 2004). Lizozomların aşırı artması hücre zehirlenmesinin en temel belirtilerinden biridir ve lizozomların toksik kimyasalı sindirmesi ve ya herhangi bir hasarlı organeli yok etmeye çalışmasını göstermektedir (Lemaire ve ark. 1992, Cheville 1994). Çalışmalarda, böbrek tübüler hücrelerinde çok sayıda miyelonoid yapının ve çok fazla hücresel atığın birikmesi, kimyasal stres sonucu hücrelerde meydana gelen faaliyet artışını gösterdiği bildirilmiştir (Hinton ve ark. 1978, Ghadially 1997, Braunbeck 1998).

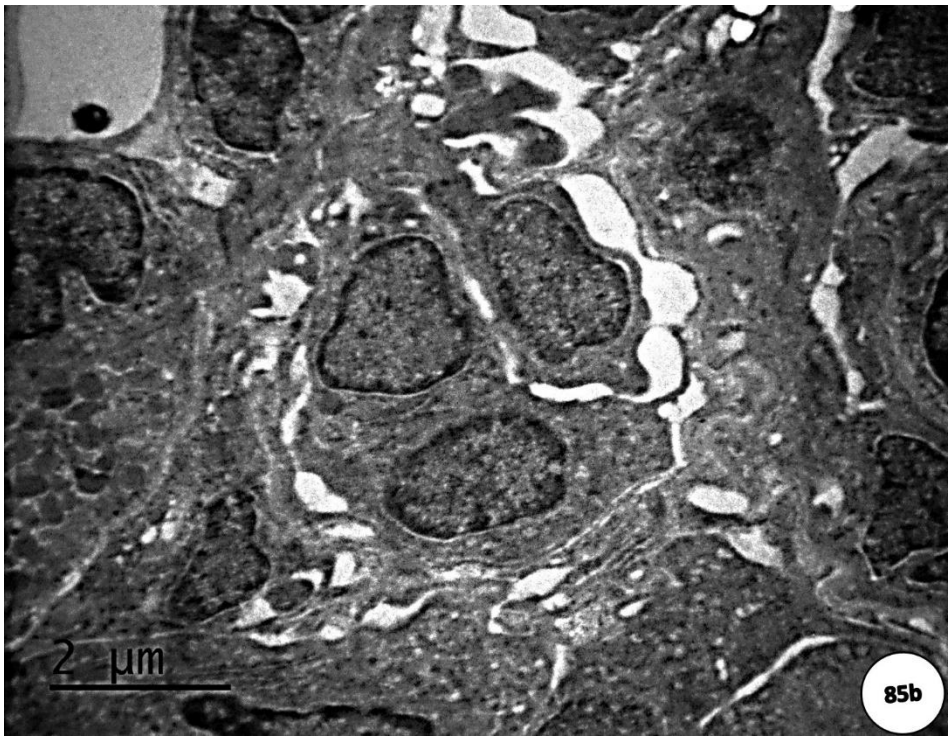
Oulmi ve ark. (1995), yaptıkları bir çalışmada linurona maruz bırakılan *O. mykiss* bireylerinin proksimal segment II hücrelerinde gözlenen sitopatolojik değişikliklerin renal korpuskuldakinden daha kalıcı ve şiddetli olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu durumun proksimal tübül hücrelerinin 2 farklı reaksiyonundan kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir: Reaksiyon Tip I'de hücrelerde kimyasalın dozuna bağlı olarak bifazik peroksizom reaksiyonu, kristalin yapılı lizozomların varlığı, elektron-dens görünümlü fırça kenar, organellerde belirgin bir azalış meydana gelmektedir. Reaksiyon Tip II'de ise hücreler bir kimyasala karşı hipertrofik çekirdek, fırça kenarın oldukça düzensiz yapılaşması ve hücrede peroksizom artışının olmaması gibi dejeneratif reaksiyonlar göstermektedir. Yaptığımız çalışmada, proksimal tübül hücrelerinde daha çok dejeneratif değişiklikler belirlenmiştir ve bu durumda hücrelerin, çalışmamızda etkisine baktığımız kimyasallara karşı, Oulmi ve ark. (1995)'nın önerdikleri Reaksiyon Tip II'deki gibi bir yanıt verdikleri düşünülebilir.

Yaptığımız literatür araştırmaları sonucunda çok defa rastladığımız ancak çalışmamızda böbrek dokularında gözlemlemediğimiz bir diğer sitopatolojik bulgu olan melano makrofaj kümeleri, bir toksik kimyasala maruz bırakılmış birçok balığın böbreklerinde rapor edilmiştir (Rabitto ve ark. 2005, Melaa ve ark. 2007, Giari ve ark. 2008). Balık böbreklerinde ortaya çıkan melano makrofaj kümleri, karaciğerde meydana gelen kümelerden farklı olarak ferrik pigment içermezler. Ferrik pigment yerine yapılarında melanin ve mukopolisakkaritler yer almaktadır (Melaa ve ark. 2007). Bu hücrelerde bulunan melanin pigmentlerinin poliansatüre yağların fagosite edilmesi sırasında ortaya çıkan serbest radikallerin nötralizasyonunda aktif görev aldıkları düşünülmektedir (Agius 1985). Aynı zamanda kapsüllü melano makrofaj kümeleri ve retikülositler ya da fibroblastlar tarafından oluşturulan tek katlı yassı hücreli tabakanın oluşması Rios ve ark. (2002) tarafından rapor edilmiştir.

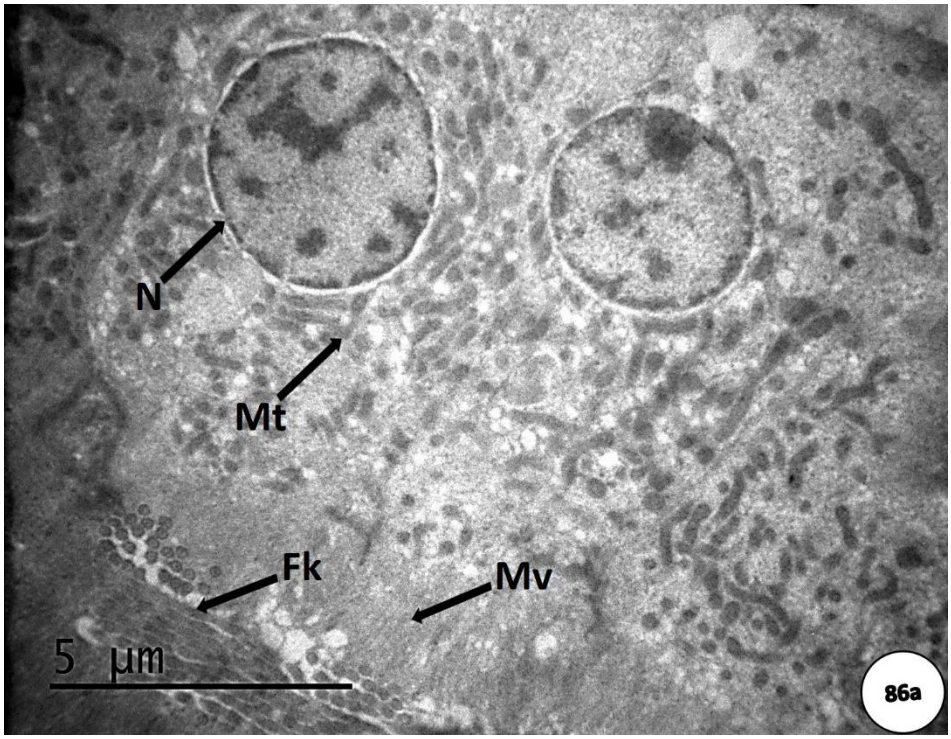
Herraez ve Zapata (1991)'ya göre böbreklerde meydana gelen melanomakrofaj kümeleri birçok balık türü için genel bir durumdur. Böbreklerde melanomakrofaj kümlerinin sayısının artması dokuda ölü hücrelerin varlığını ya da yüksek miktarda kan hücresinin yer değiştirdiğini göstermektedir (Meseguer ve ark. 1994, Ravaglia ve Meseguer 1995). Özellikle nekrotik dokularda makrofaj kümelerinin görülmesi, bu hücrelerin nekrotik hücreleri yok etmelerinden kaynaklanlanabileceğini göstermektedir (Herraez ve Zapata 1991). Birçok çalışmada, böbreklerde gözlenen, melano makrofaj kümelerinin çevresel dejenerasyon ve kirlenme için önemli bir biyobelirteç olduğu bildirilmiştir (Wolke ve ark. 1985, Manera ve ark. 2000, Stentiford ve ark. 2003).



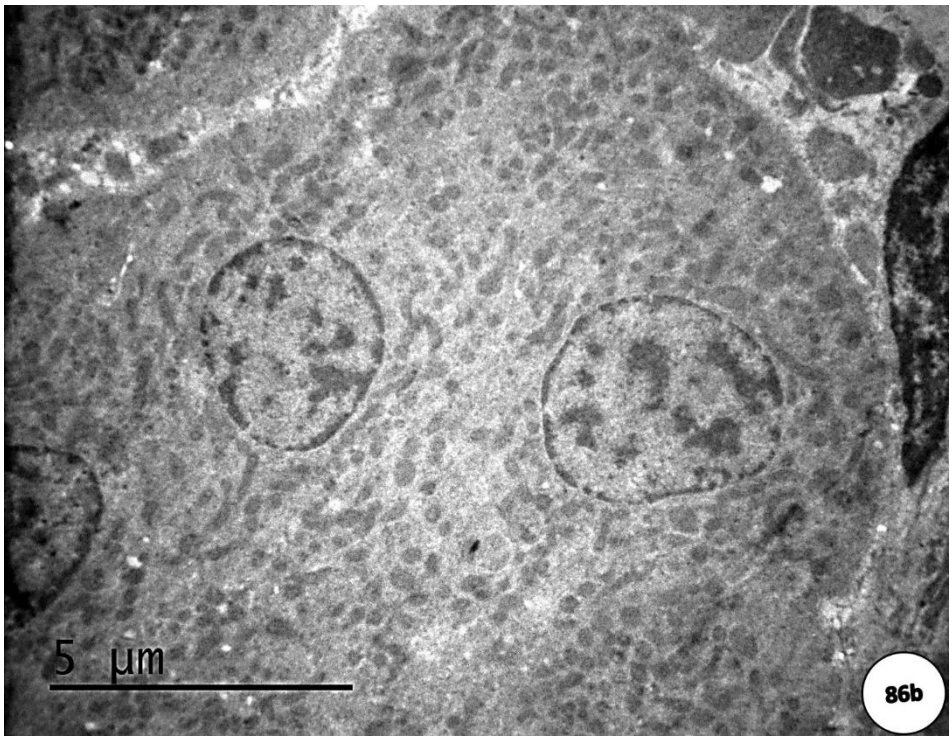
Şekil 4.85a. Kontrol (Grup I) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin glomerulus hücrelerinin yapısı: Podosit Hücre Çekirdeği (N), Pediseller (Pd), Endotelyal hücre çekirdeği (EN) (21. Gün).



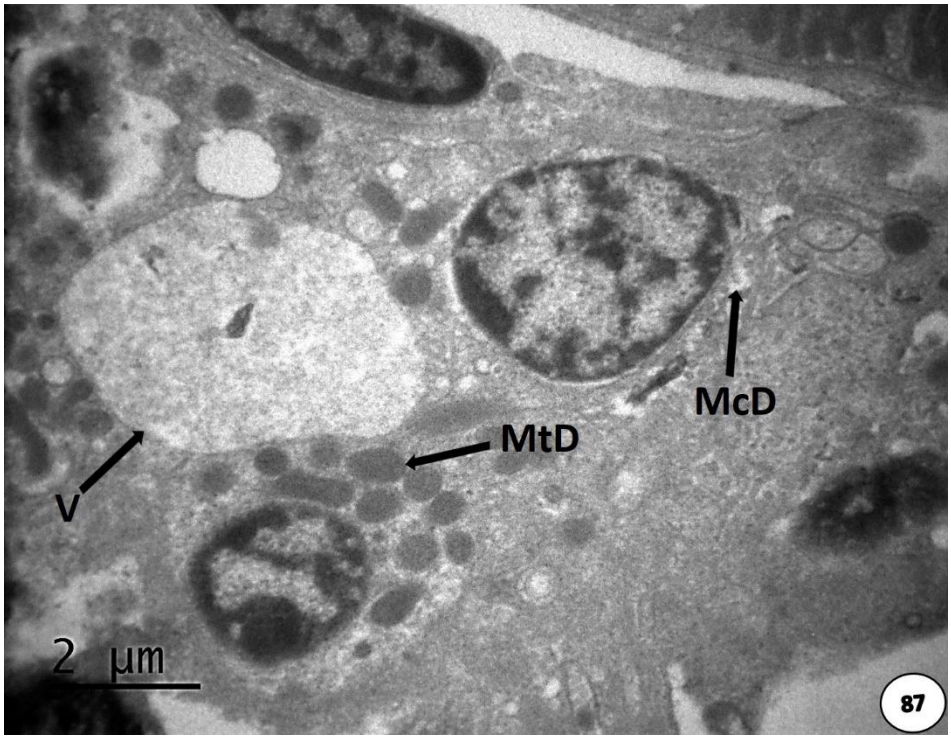
Şekil 4.85b. Aseton kontrol (Grup II) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin glomerulus hücrelerinin yapısı (21. Gün).



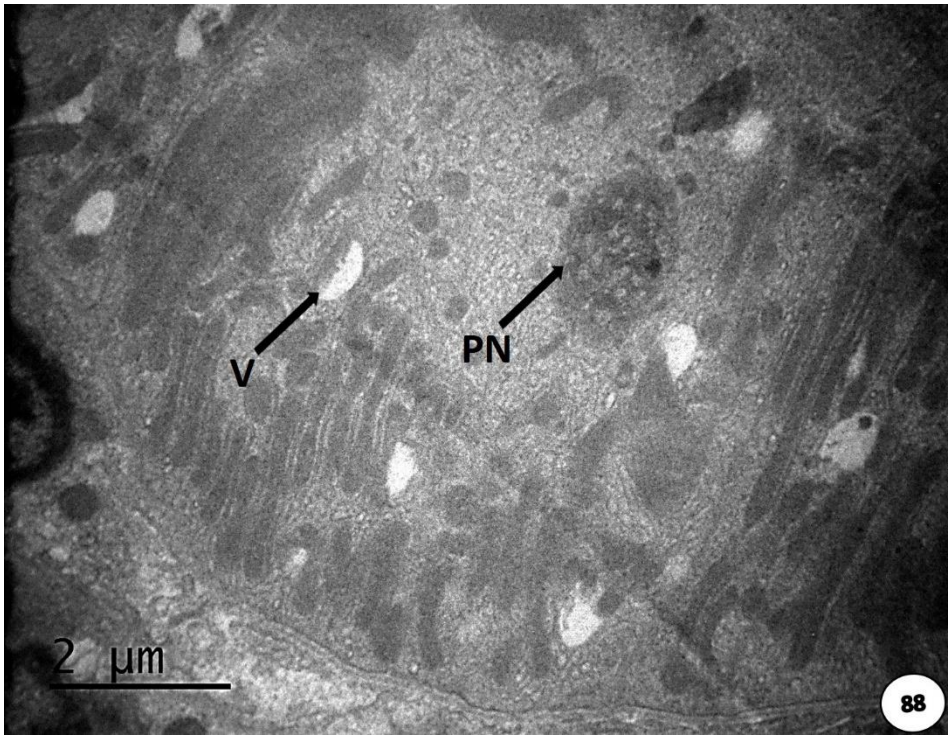
Şekil 4.86a. Kontrol (Grup I) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin proksimal tübül hücrelerinin yapısı: Proksimal tübül kübik epitel hücre çekirdeği (N), Mitokondri (Mt), hücrenin apikalinde mikroviluslar (Mv), Fırça sınır (kenar) (Fk) (21. Gün).



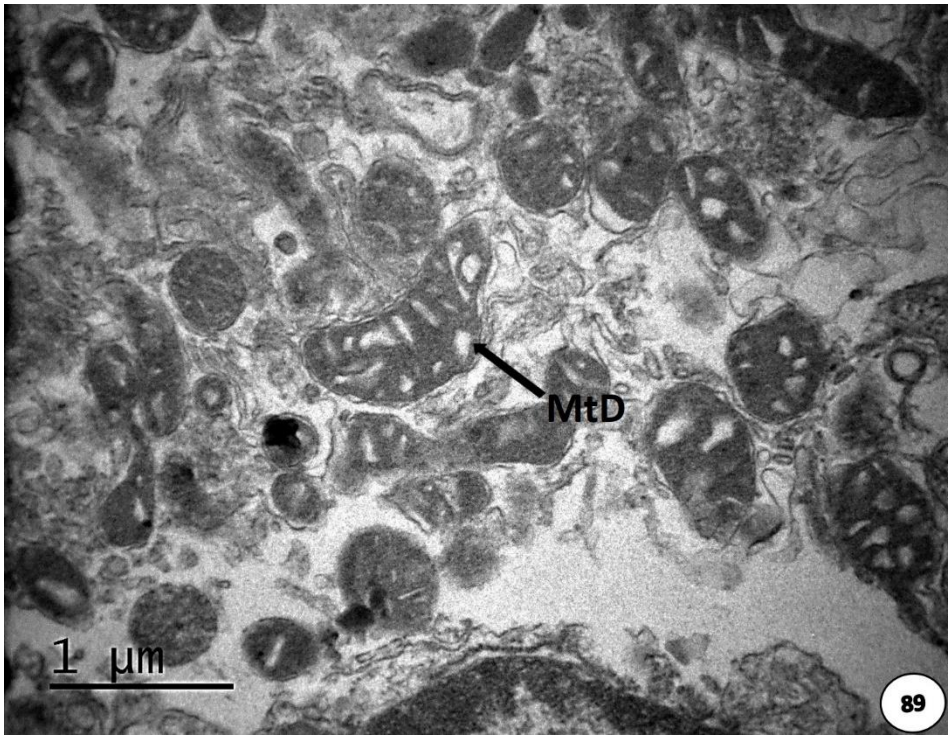
Şekil 4.86b. Aseton kontrol (Grup II) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin proksimal tübül hücrelerinin yapısı (21. Gün).



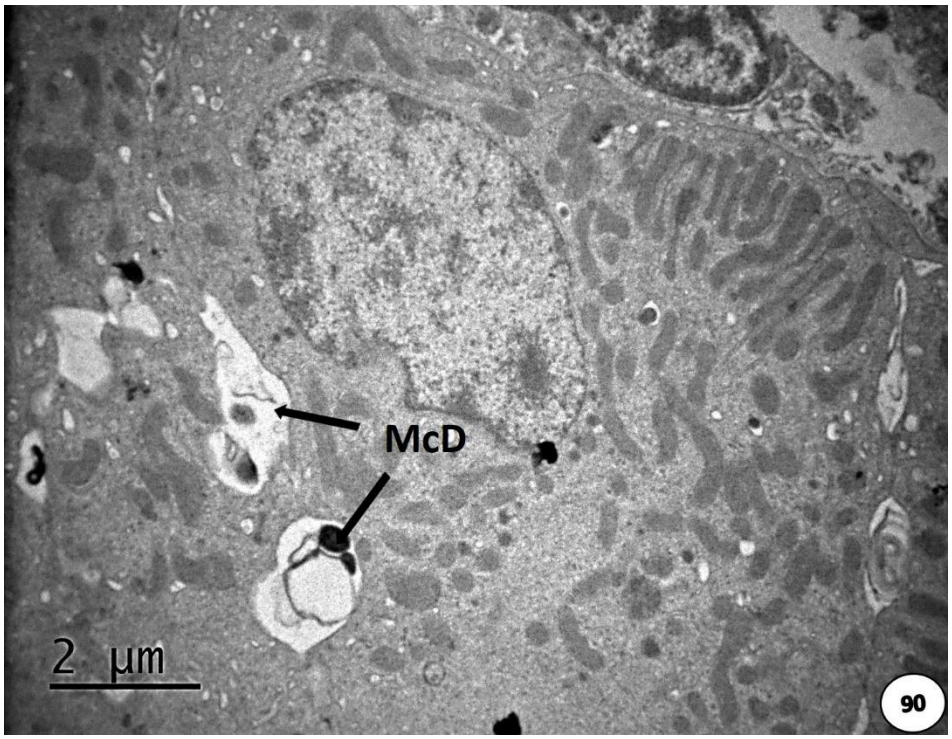
Şekil 4.87. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: proksimal tübül hücreleri sitoplazmasında vakuolizasyon (V), mitokondrilerde deformasyon (şişme) (MtD), mikrotübül yapısında bozulma (McD).



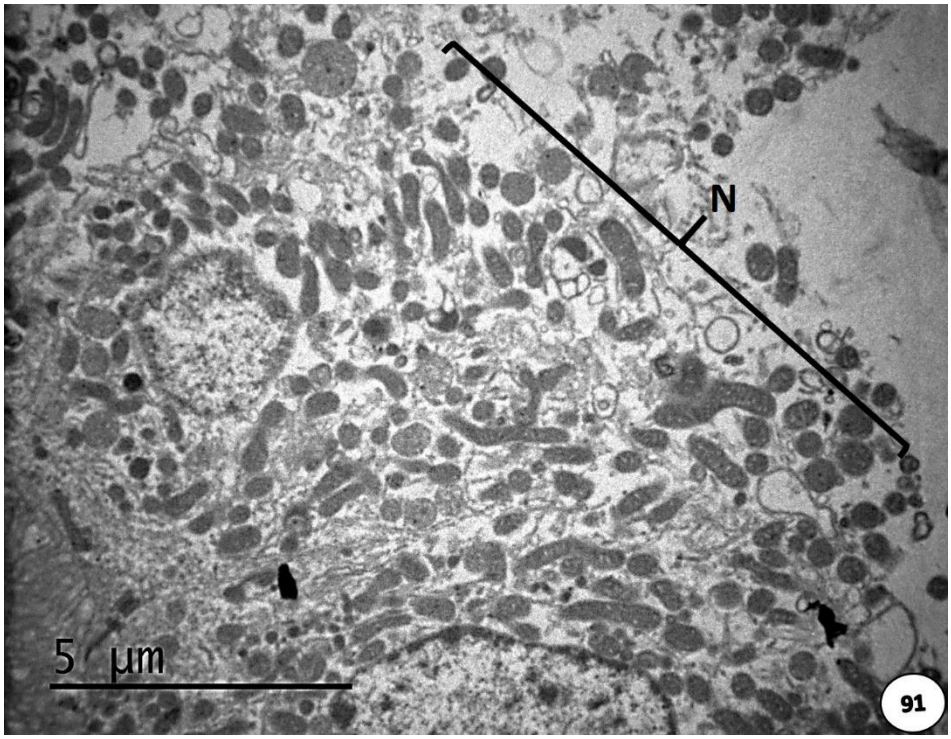
Şekil 4.88. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: proksimal tübül hücrelerinde piknotik çekirdek (PN), vakuolizasyon (V).



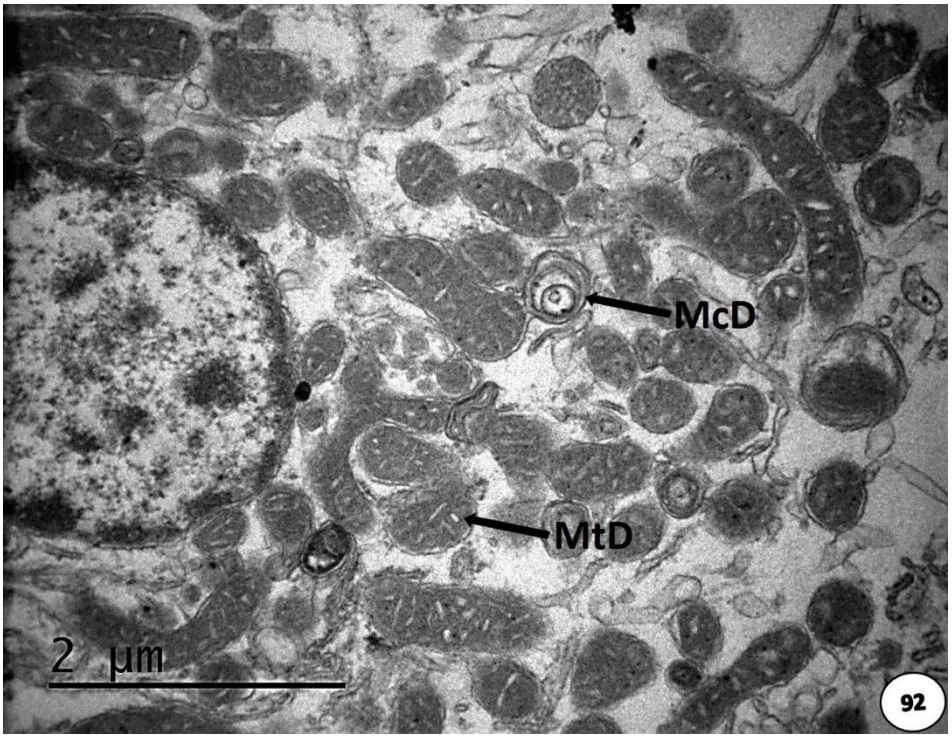
Şekil 4.89. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Mitokondrilerde krista deformasyonu (MtD).



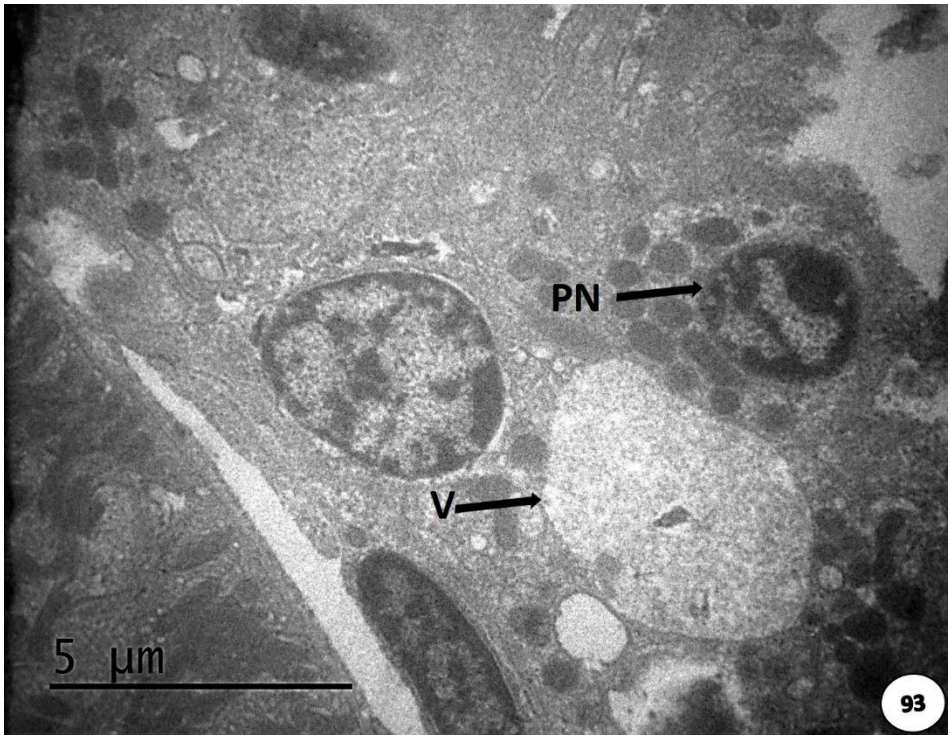
Şekil 4.90. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: a) Proksimal tübül hücre sitopalzmasında mikrotübler dejenerasyon.



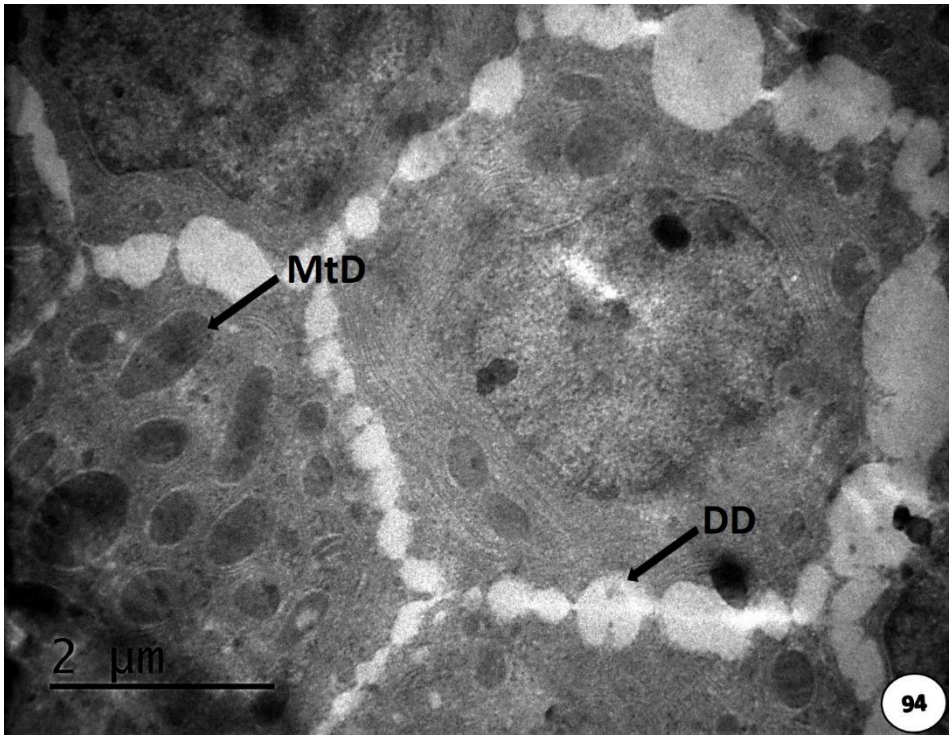
Şekil 4.91. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: proksimal tübül hücrelerinde nekroz (N).



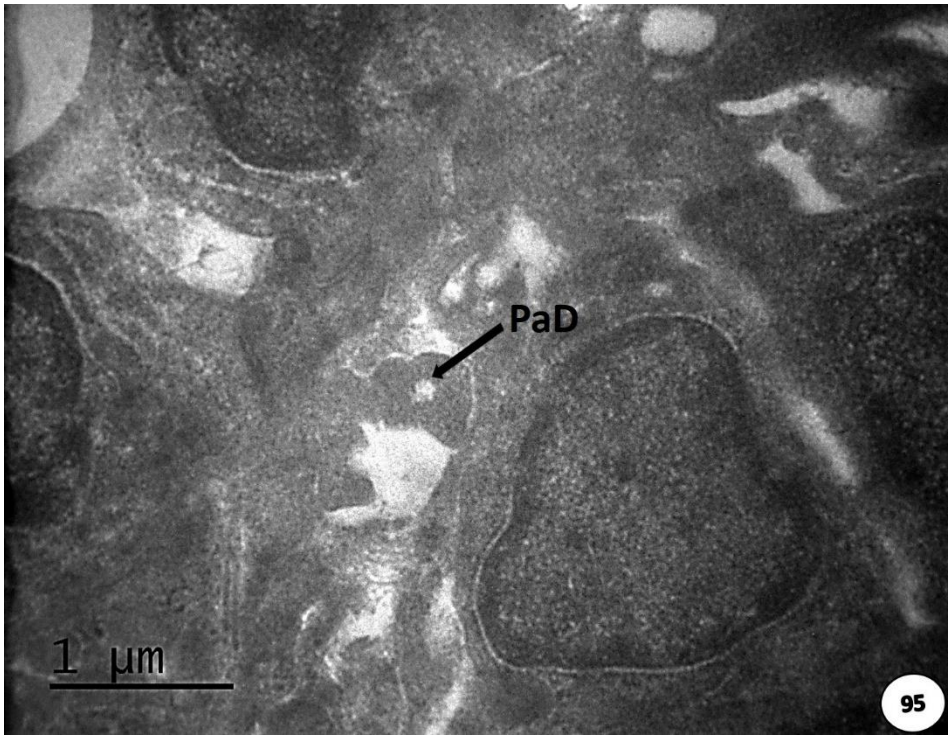
Şekil 4.92. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: proksimal tübül hücrelerinde mitokondriyal deformasyon (MtD), Mikrotübüler dejenerasyon (McD).



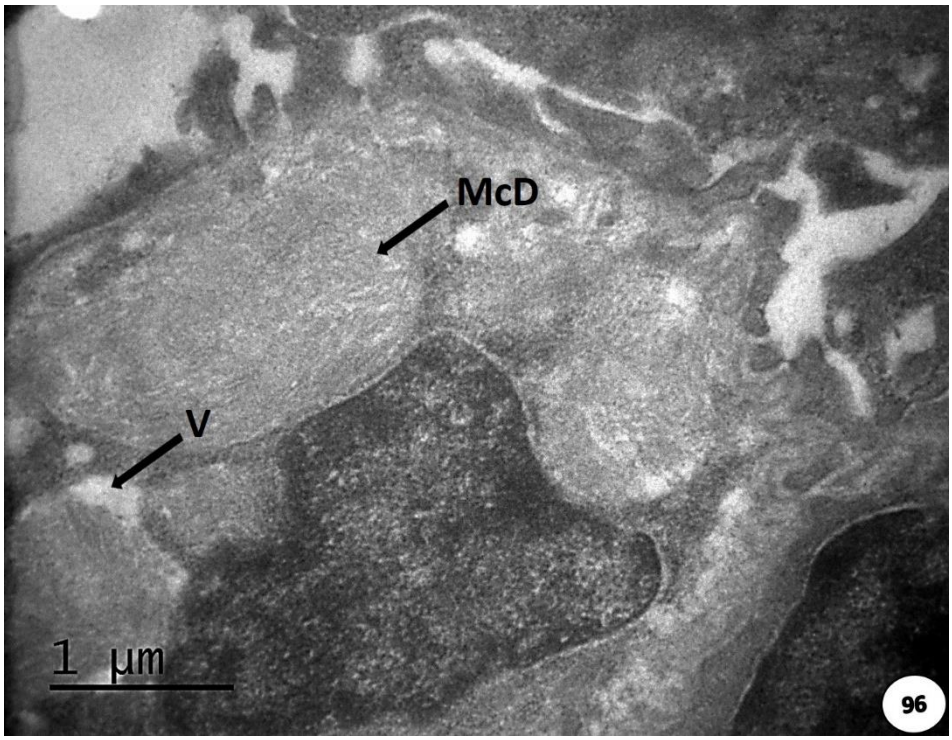
Şekil 4.93. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: proksimal tübül epitel hücresinde vakuolizasyon (V), piknotik çekirdek (PN).



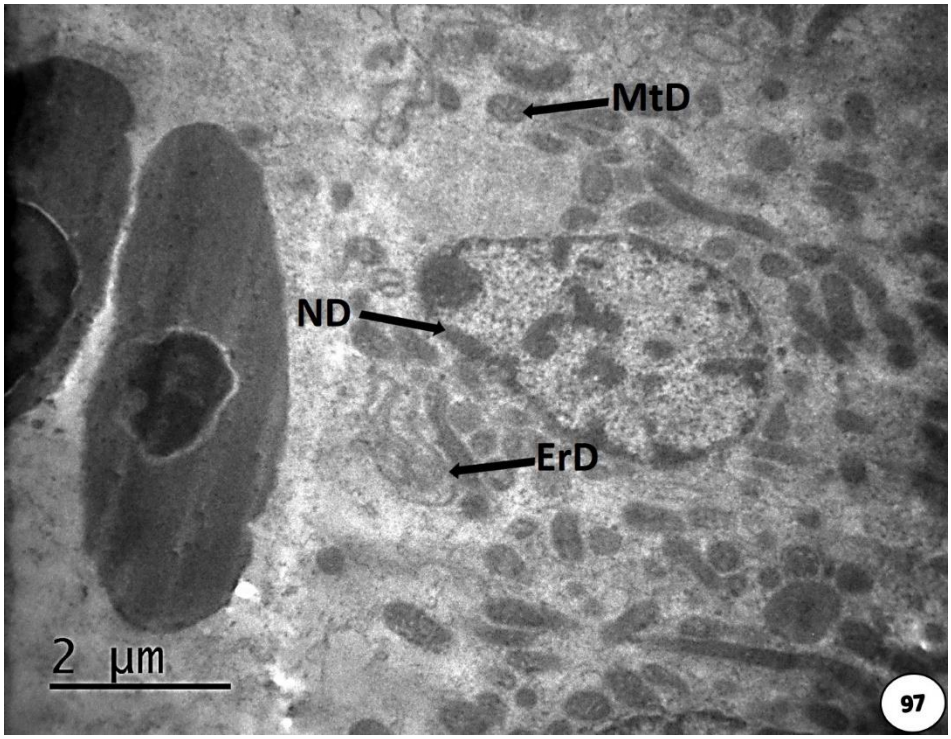
Şekil 4.94. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: proksimal tübül epitel hücresinde mitokondrilerde deformasyon (MtD), dezmozomlarda deformasyon (DD).



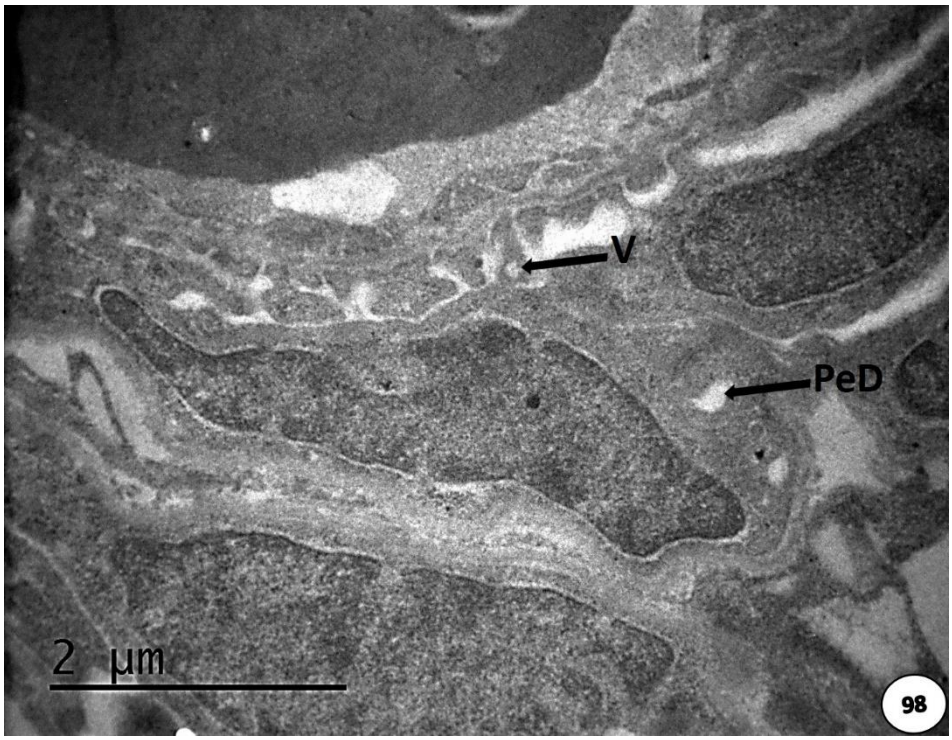
Şekil 4.95. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: podositlerde deformasyon (PaD).



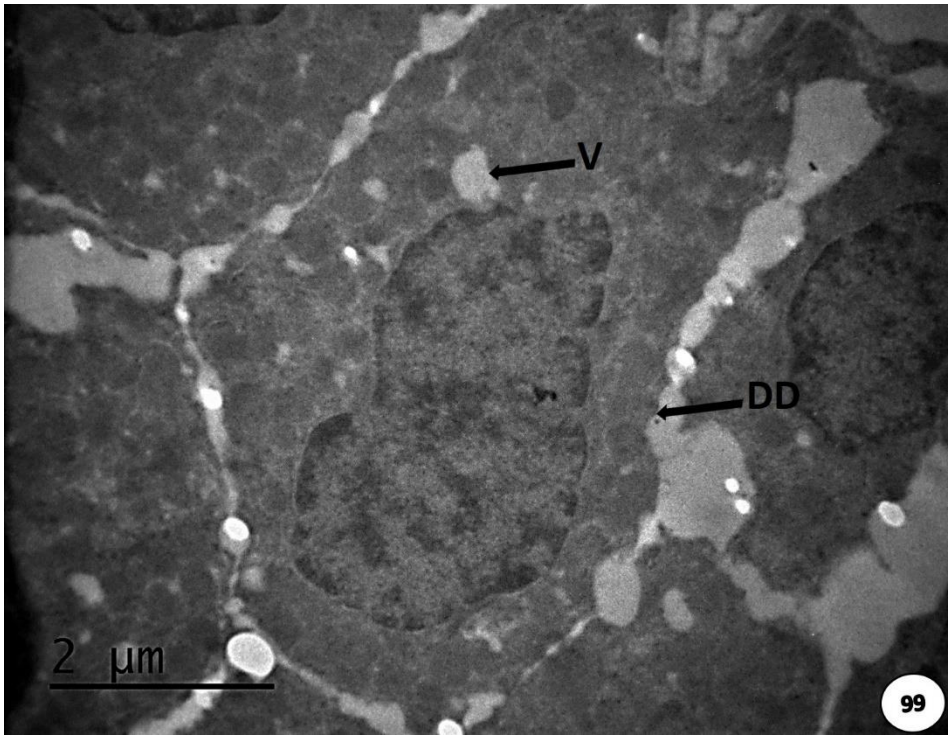
Şekil 4.96. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Podositte mikrotübüler deformasyon (McD), podositte vakalizasyon (V).



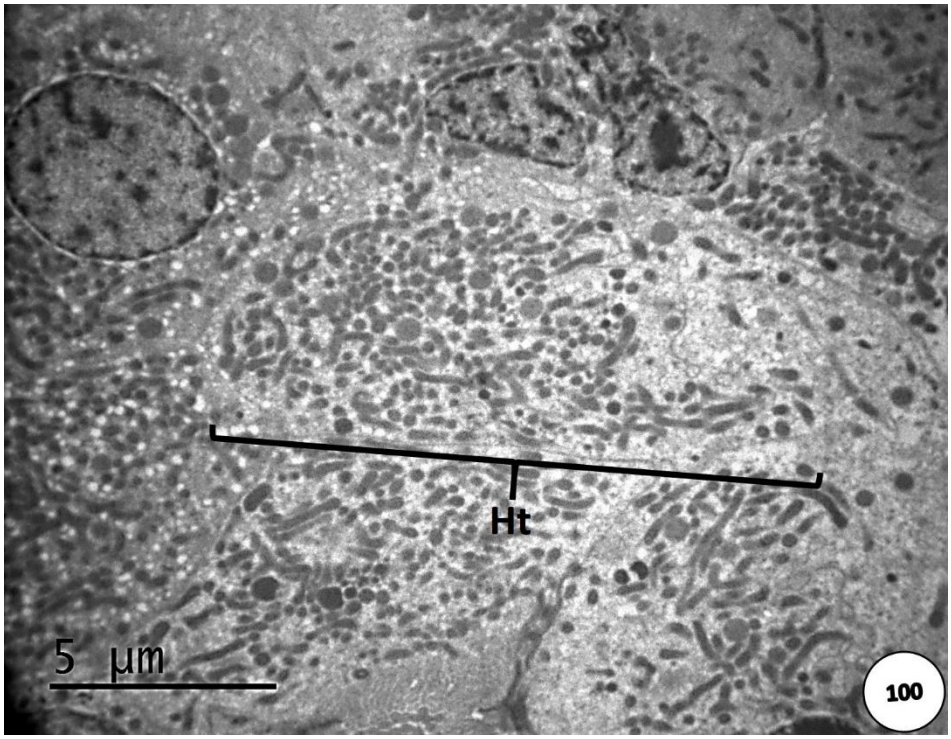
Şekil 4.97. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: proksimal tübül epitek hücre mitokondrilerinde krista deformasyonu (MtD), ER deformasyonu (ErD), çekirdek morfolojisinde deformasyon (ND).



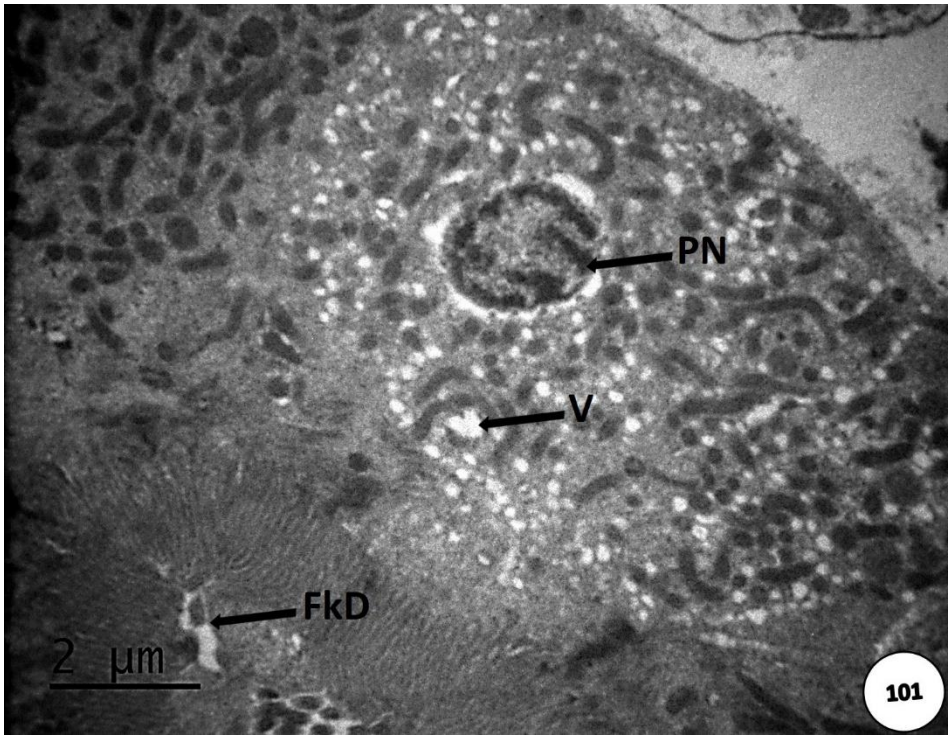
Şekil 4.98. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: podositte vakuolizasyon (V), pedisellerde deformasyon (PeD).



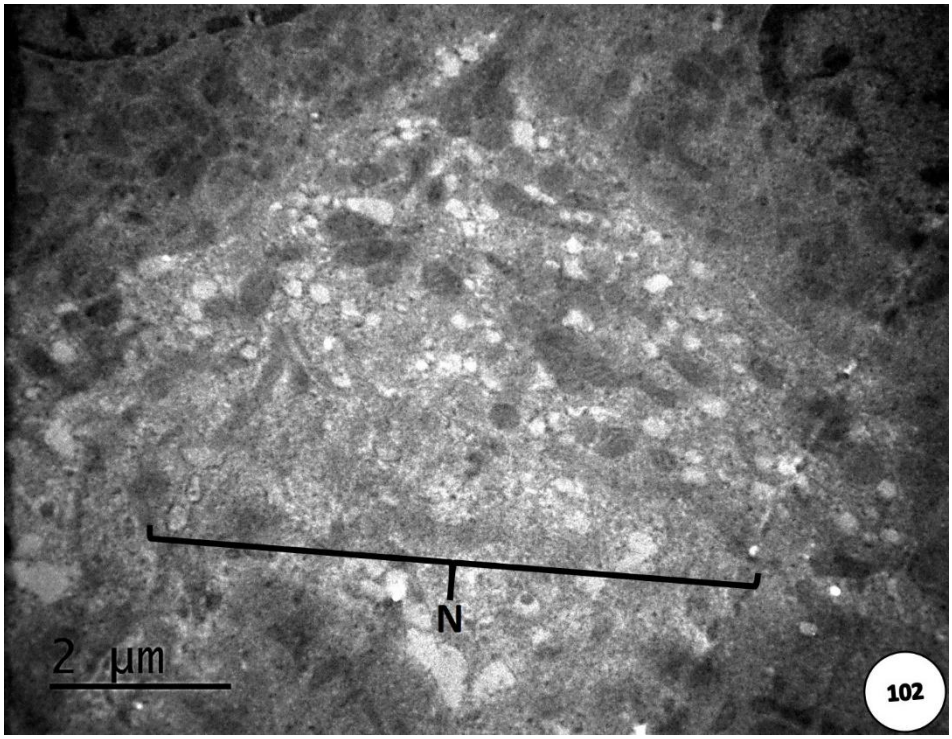
Şekil 4.99. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: proksimal tübül epitel hücresinde vakuolizasyon (V), proksimal tübül epitel dezmozomunda deformasyon (DD).



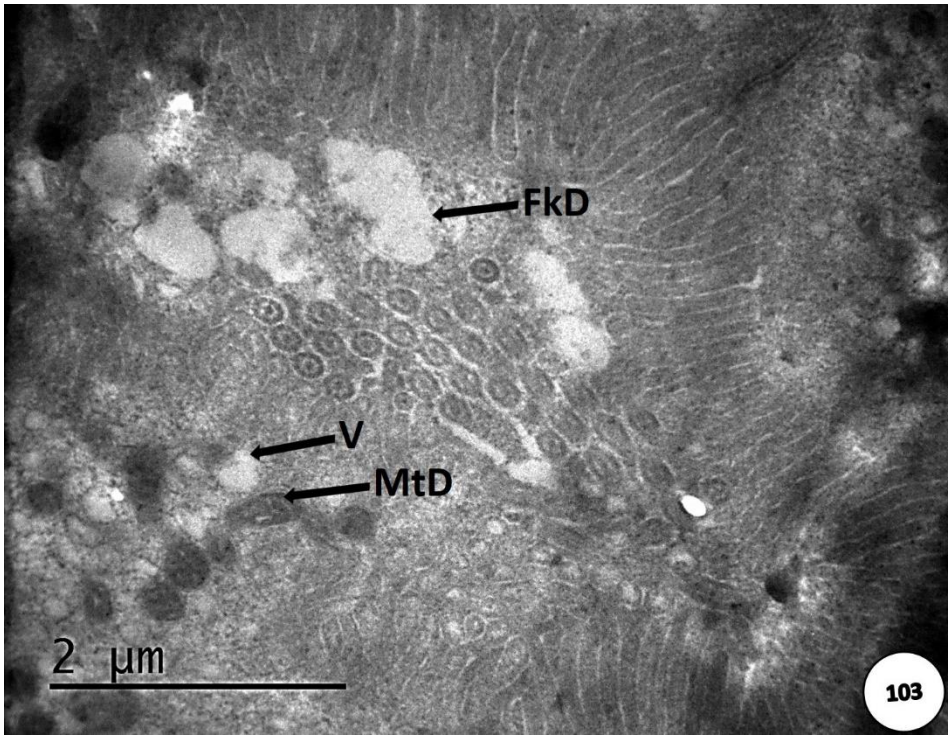
Şekil 4.100. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: hipertrofik proksimal tübül epitel hücresi.



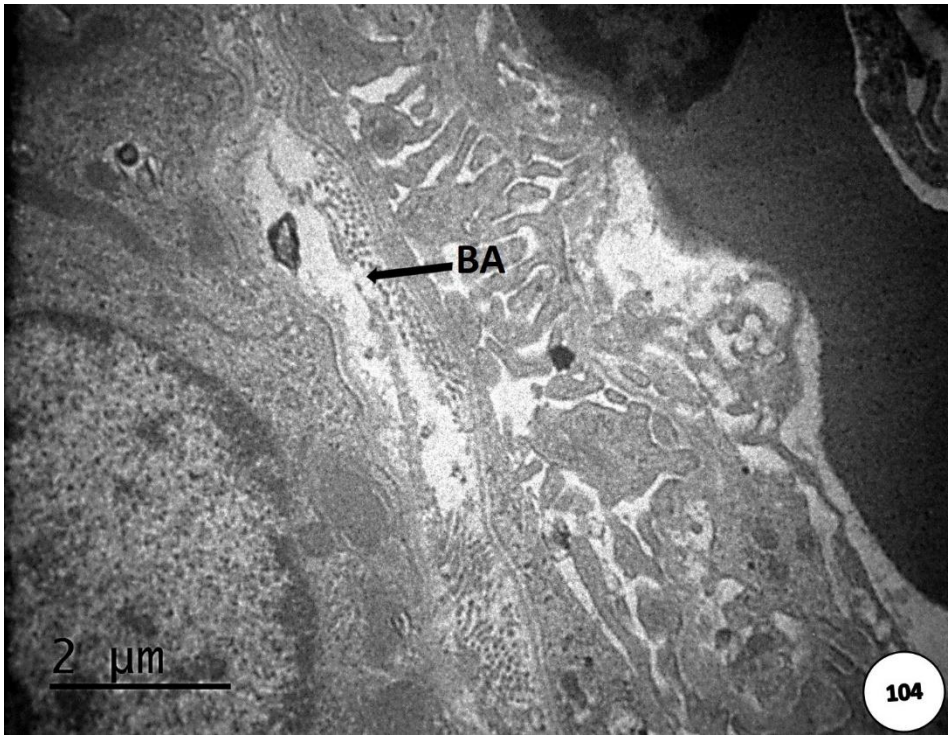
Şekil 4.101. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: proksimal tübül epitel hücresinde piknotik çekirdek (PN), vakuolizasyon (V), fırça kenarda deformasyon (FkD).



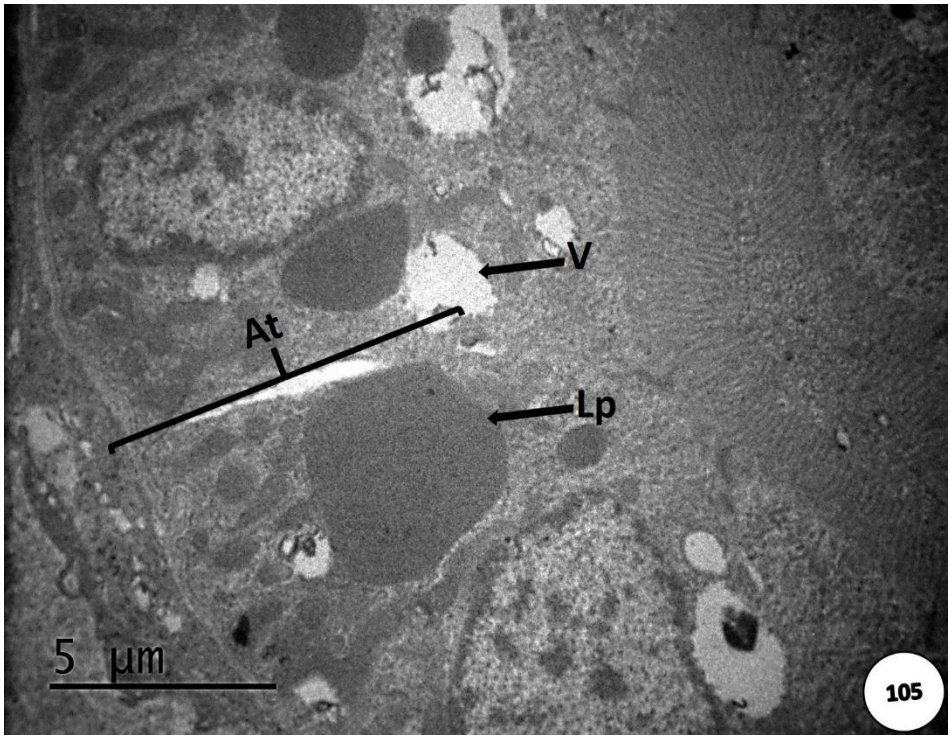
Şekil 4.102. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: proksimal tübül epitelinde nekroze bölge (N).



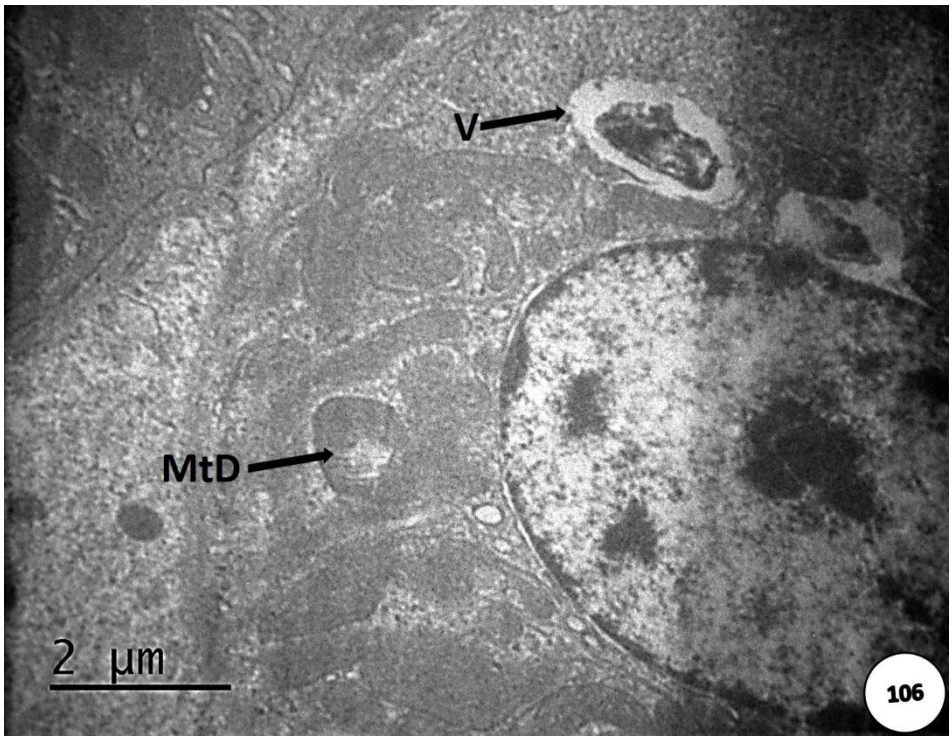
Şekil 4.103. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: fırça kenarda deformasyon (FkD), mitokondriyal deformasyon (MtD), vakuolizasyon (V).



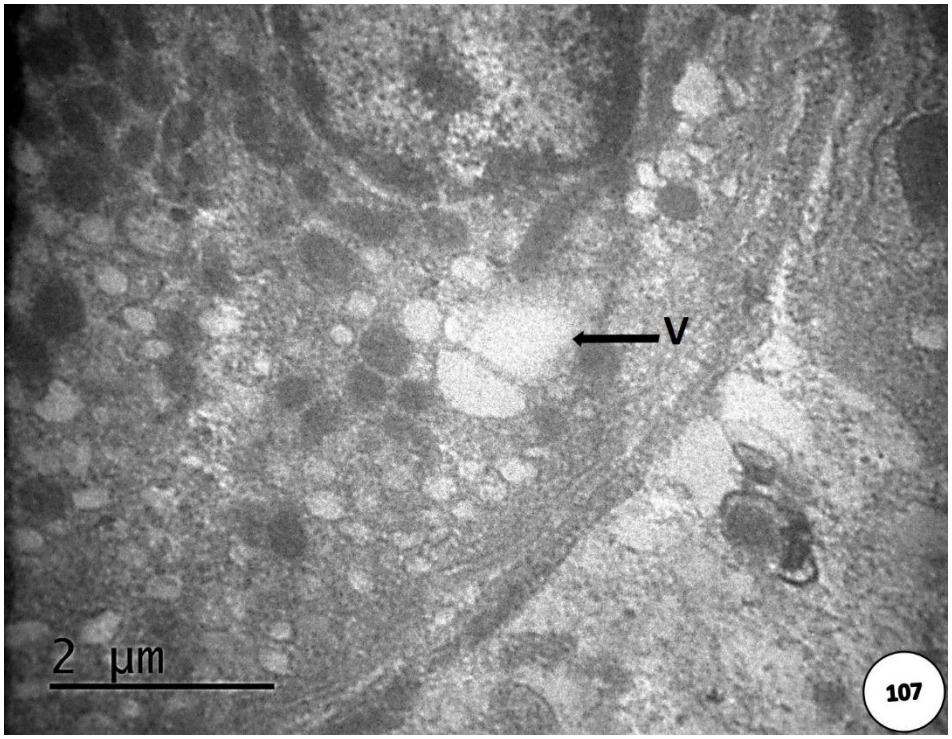
Şekil 4.104. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: endotelyal hücrenin basal laminadan ayrılması (BA).



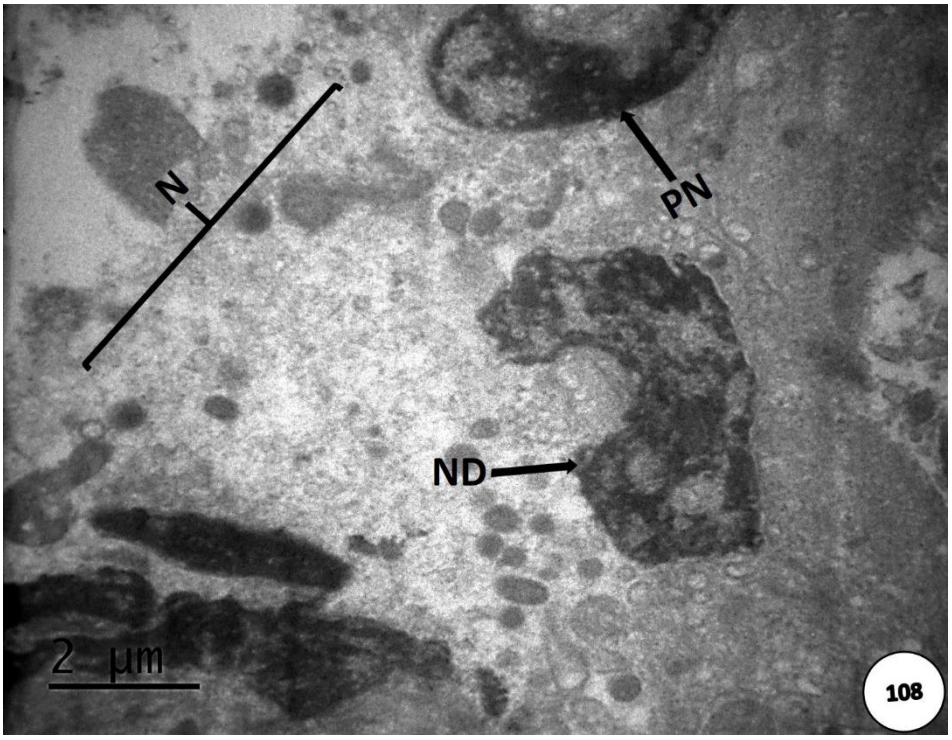
Şekil 4.105. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: proksimal tübül epitel hücresinde vakuolizasyon (V), lipopigment dejenerasyonu (Lp), atrofik proksimal tübül epitel hücresi (At).



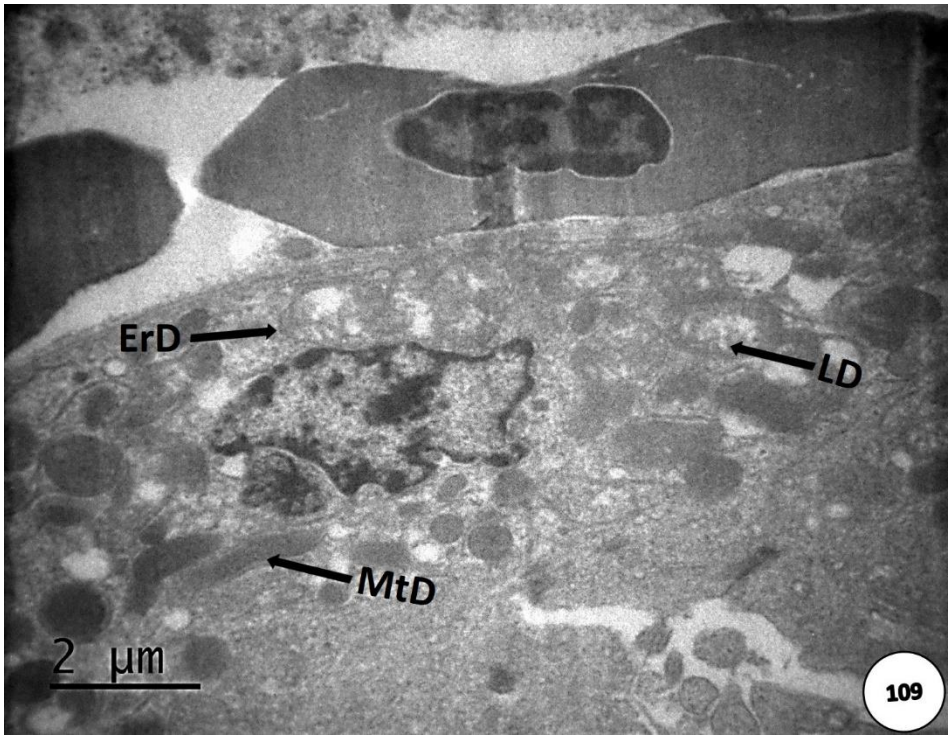
Şekil 4.106. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: proksimal tübül epitel hücresinde mitokondri deformasyonu (MtD), vakuolizasyon (V).



Şekil 4.107. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: proksimal tübül epitel hücresinde vakuolizasyon (V).



Şekil 4.108. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: morfolojik deformasyona uğramış çekirdek (ND), piknotik çekirdekli proksimal tübül epitel hücresi (PN), nekroze bölge (N).



Şekil 4.109. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin böbreklerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: proksimal tübül epitel hücresi ER de deformasyon (ErD), lizozomal dejenerasyon (LD), c) mitokondriyal deformasyon (MtD).

4.2.3. Karaciğer

Balık karaciğerlerinde meydana gelen ultrastrüktürel değişimler, toksik kimyasalların neden olduğu hücresel hasarların belirlenmesinde iyi birer indikatör olarak bildirilmiştir (Braunbeck ve Volkl 1991).

Balıklarda karaciğer, hepatosit denilen tipik epitel hücrelerinden meydana gelmiştir ve belirgin bir lobüler yapı göstermez (Hadi ve Alwan 2012). Hepatositler belirgin polariteleri ile karakterize olmaktadırlar. Bu hücrelerin apikal kutupları safra sistemi ile kontak halinde iken bazal kutupları sinüzoidlerin endotelyal sınırına dayanmaktadır (Oulmi ve ark. 1995). Karaciğerde, 3-5 grupluk hücreler düzenli bir şekilde bir araya gelerek safra kanalının oluşmasını sağlamaktadır (Hampton ve ark. 1985). Ayrıca hepatositler, içinde çok az yağ inklüzyonları içeren geniş glikojen alanları ve sitoplazmanın perinükleer organel içeren kısmı olarak iki kısma ayrılmaktadır (Braunbeck ve ark. 1990). Bu hücreler, merkezi çekirdeğin etrafında yoğun bir şekilde dağılan granüllü endoplazmik retikulum (GER) ve bu GER'lerin içine dağılmış olan az miktarda mitokondri içermektedir. Çekirdekler ise oval, heterokromatin yapılıdır ve belirgin bir çekirdekçik içermektedir. Bu hücrelerde çekirdek ve safra kanalı arasında, GER alanından sonra, Golgi bölgesi gelmektedir ve bu alanda birçok vezikül, lipoprotein granülleri ve lizozom bulunmaktadır (Şekil 4.110a ve 4.110b).

Karaciğer kimyasal metabolizasyon merkezidir. Aynı zamanda bu organ detoksifikasyon süreci altında birçok kirleticinin biyokimyasal transformasyonunda önemli bir rol oynamaktadır (Reddy ve Rawat 2013). İnsektisitlerin birçoğu karaciğer hücrelerinde, mitokondrinin çözülebilir fraksiyonlarında yer alan enzimler tarafından metabolitlerine biyotransforme olurlar ve bazı durumlarda bu metabolitler orijinal üründen daha toksik olabilirler (Fanta ve ark. 2003). Bu bağlamda, karaciğerde, karaciğerin toksik kimyasallara maruziyeti ve buna bağlı olarak bu organda meydana gelen sitopatolojik lezyonlar sıklıkla gözlemlenmektedir. Aynı zamanda, kirleticilerin, bu organın fonksiyonunu ve metabolik kapasitesini etkilediği de bildirilmiştir (Mohammed 2009).

Yaptığımız çalışmada 21 gün boyunca *O. niloticus* bireylerinin karaciğer ultrasütrüktüründe herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4.110a ve 4.110b).

4.2.3.1. Carbaryl Grubunda (Grup III) Belirlenen Sitopatolojik Bulgular

850 µg/L Carbaryl'e 7 gün boyunca maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğer dokularının ultrasütrüktürel incelemesinde hepatositlerin çekirdeklerinde morfolojik deformasyon kaydedilirken, GER'de büyük besin veziküllerinden kaynaklanan vakuolizasyon ve aşırı şekilde büyümüş peroksizom görülmektedir (Şekil 4.111).

14. günün sonunda hücrelerdeki patolojinin şiddeti artmıştır. Hepatositlerde hipertrofi görülürken GER'lerde deformasyon belirgindir ve hücre içinde büyük veziküler yapılar dikkat çekmektedir. Dokuda lenfosit infiltrasyonu tespit edilmiştir (Şekil 4.112).

21. günün sonunda hücrelerdeki GER'lerde deformasyon devam ederken hepatositlerde nekrozun öncül belirtisi olan piknotik çekirdek ve safra kanallarında deformasyona bağlı bozulmalar gözlenmiştir (Şekil 4.113). Aynı zamanda hepatositlerde aşırı vakuolizasyon kaydedilmiştir (Şekil 4.114).

4.2.3.2. Diazinon Grubunda (Grup IV) Belirlenen Sitopatolojik Bulgular

280 µg/L Diazinon kosantrasyonuna maruz kalan canlıların 7. günde hepatositlerinde aşırı büyük vakuol ve peroksizom, ayrıca çekirdekte ve peroksizomlarda morfolojik deformasyon görülmektedir (şekil 4.115).

14. günde Diazinon'a maruz kalan canlıların hepatositlerinde en dramatik değişiklik yağ dejenerasyonudur (Şekil 4.117). Sitoplazmada lizozomik veziküler proliferasyon görülürken çekirdekte piknozis meydana geldiği belirlenmiştir (Şekil 4.116). Yağ dejenerasyonu sonucu hepatosit çekirdeğinin yapısal bütünlüğünün bozulduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.117).

21. günde lizozomal proliferasyona bağlı nekroze bölgeler (Şekil 4.118) ve lizize uğramış çekirdek görülmektedir (Şekil 4.119).

4.2.3.3. Lambda-cyhalothrin Grubunda (Grup V) Belirlenen Sitopatolojik Bulgular

0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e 7 gün boyunca maruz kalan canlıların hepatositlerinde ER deformasyonu ve büyük veziküler yapılar görülmektedir (Şekil 4.120).

14. günün sonunda hepatositlerde ER deformasyonu, lizise uğramış çekirdek (şekil 4.121) ve nekroze bölgeler belirlenmiştir (Şekil 4.122).

21. günde dokuda nekrozun şiddeti artmıştır, buna bağlı olarak safra kanallarının bütünlüğü bozulmuştur (Şekil 4.123) ve hepatositlerde lizozomal proliferasyona bağlı vakuolizasyon ve bunun sonucu olarak ER deformasyonu görülmektedir (Şekil 4.124).

4.2.3.4. Atrazin Grubunda (Grup VI) Belirlenen Sitopatolojik Bulgular

0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin 7 gün sonunda hepatositlerinde, lizozomal veziküler proliferasyona bağlı ER deformasyonu ve çekirdek morfolojisinde değişiklik belirlenmiştir (Şekil 4.125).

14. günde lizise uğramış çekirdek ve ER deformasyonu görülmektedir (Şekil 4.126).

21. günde ise karaciğer dokusunda nekroz görülürken, hepatositlerde yağ dejenerasyonu bu nekroza eşlik etmektedir (Şekil 4.127).

Balık karaciğerlerinde yapılan sitotoksik çalışmalar, bu dokunun organik kirleticilerin bu canlılarda meydana getirdiği etkilerin belirlenmesinde önemli birer araçtır (Schoor ve Couch 1979, Braunbeck 1994). Hepatosit ER'lerinde meydana gelen dejeneratif değişiklikler yapay kimyasalların karaciğerde yaptığı en önemli etkidir (Braunbeck 1998).

Hepatositlerde meydana gelen sitopatolojik yanıtların büyük bir bölümünün çok çeşitli çevresel değişikliklere karşı oluşan hücresel organizasyonda meydana gelen kayıplar olduğu ve bu kayıpların hücre iskeletine saldıran kimyasallardan kaynaklandığı bildirilmiştir (Rez 1986, Braunbeck 1998). Buna ek olarak, oldukça az gelişmiş hücresel organizasyonun hücre metabolizmasında meydana gelen şiddetli bir bozukluğu gösterdiği ileri sürülmüştür (Verreth ve ark. 1987).

GER'lerde meydana gelen proliferasyon, fragmantasyon ve vezikülasyon gibi çeşitli sitopatolojik değişimlerin, ksenobiyotik kaynaklı stese karşı hücrenin gösterdiği genel bir reaksiyon olduğu rapor edilmiştir (Hacking ve ark. 1978, Burkhardt-Holm ve ark. 1999, Wu ve ark. 1999). Birçok araştırmacı GER'lerde meydana gelen bu tip değişimlerin heptositlerin kimyasal maruziyetine bağlı olarak gerçekleştirdikleri yüksek biyotransformasyon kapasitesinden (Schoor ve Couch 1979, Braunbeck ve Volkl 1993,

Au ve ark. 1999) ve bu durumun ER sisternalarında salgılama aktivitesinin azalmasına bağlı olarak meydana gelen aşırı protein birikiminin yol açtığı genişlemeden kaynaklandığı bildirilmiştir (Ghadially 1988). GER proliferasyonu, detoksifikasyona bağlı olarak meydana gelen savunma ve dejeneratif süreçlerin oluşmasını göstermektedir ve bu durum karaciğerin adaptasyon sürecinden kaynaklanırken, GER ve nüklear zarfın dilatasyonu karaciğerin dejeneratif değişikliğe uğradığını belirtmektedir (Braunbeck 1998). GER'lerde meydana gelen proliferasyon, fragmantasyon ve vezikülasyon gibi sitopatolojik değişiklikler ksenobiyotik kaynaklı strese karşı balığın göstermiş olduğu en genel reaksiyonlardır ve hepatositlerin artan biyotransformasyon kapasitesini göstermektedir.

Granülsüz endoplazmik retikulum (GsER), hepatositlerde lipid ve toksik kimyasalların metabolizasyonu ve glikojenin parçalanması faaliyetlerini yürütmektedir. Sitokrom P450 gibi birçok biyotransformasyon enziminin ER'lerin membranlarında bulunmasından ve bu enzimlerin birçok organik kirleticinin detoksifikasyonunda yer almasından dolayı, GsER ve GER proliferasyonu genellikle biyotransformasyon sürecinin indüklenmesinin bir göstergesi olarak düşünülmektedir (Hinton ve ark. 1978, Van der Weiden ve ark. 1989). GER ve GsER proliferasyonu, karma fonksiyonlu oksidazların indüklenmesinin bir göstergesi olarak da kabul edilmektedir (Hawkes 1980). Bu sebeplerden dolayı GsER ve GER proliferasyonu balıkların organik kirleticilere maruziyetinin hasas bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Velmurugan 2011).

Birçok çalışmada çeşitli pestistlere maruziyet sonucu balıkların karaciğer hepatositlerinde lipid birikiminin meydana geldiği tespit edilmiştir (Tophon ve ark. 2004, Dezfuli ve ark. 2006, Giari ve ark. 2007). Bu değişimin hepatosit proteinlerinde meydana gelen azalmadan kaynaklandığı ve bunun lipid-protein konjugasyonunda proteinlerin kullanılamamasının bir sonucu olduğu düşünülmektedir (Cheville 1994).

Genel olarak, karaciğerde meydana gelen birçok reaksiyon enerji rezervlerinin mobilizasyonu sırasında balıkta meydana gelen yüksek stresin bir semptomu ve metabolizasyon/detoksifikasyon kapasitesinin kuvvetlendirilmesi için gerekli morfolojik yapılandırmanın bir kanıtı olarak düşünülmektedir (Segner ve Braunbeck 1998, Triebskorn ve ark. 2004). Aynı şekilde, heterokrimatin marjinalizasyonu, nükleer zarda meydana gelen deformasyonlar, çekirdekçik sayısında artış gibi nükleer değişiklikler ve

mitokondrilerde meydana gelen morfolojik değişimler ile makrofajların hepatik dokuya imigrasyonu da toksik maddelere karşı balığın gösterdiği spesifik olmayan işaretler olarak değerlendirilmektedir (Braunbeck ve ark. 1989, Braunbeck ve ark. 1990). Kirlenmiş su kaynaklarından yakalanmış balıkların hepatositlerinde gözlemlenen lizozom sayısında artma, genel toksisitenin ve buna bağlı olarak hücre organellerinde meydana gelen aşırı dejenerasyonun bir işareti olarak tanımlanmıştır (Hugla ve Thome 1999). Lizozomal membran stabilitesinde azalma lizozomun büyüklüğünde ve hücrelerdeki lipid içeriğinde artış ile örtüşmektedir (Kohler ve ark. 2002).

Birçok balık türünde kirleticilere maruziyet sonucu, hepatik glikojen stoklarında azalma olduğu rapor edilmiştir (Sastry ve Siddiqui 1983, Verma ve ark. 1983). Araştırmacılar bu durumun detoksifikasyon sürecinde artan metabolik aktivitede kullanılmak üzere gerekli olan enerji ihtiyacını karşılamak için hepatositlerde glikolitik faaliyetlerin artması sonucu ya da karbonhidratların intestinal alımının azalmasından dolayı meydana geldiğini düşünmektedirler (Gluth ve Hanke 1985). Kirleticilere maruz kalmış balıkların karaciğer hepatositlerinde meydana gelen yağ dejenerasyonunun, hücre mitokondrisinde meydana gelen fonksiyon kaybına bağlı olarak yağ asidi oksidasyonunda meydana gelen azalmadan kaynaklı olabileceği bildirilmiştir (Diazani 1957). Hepatosit sitoplazmasında oluşan yağ damlacıkları, çok düşük yoğunluklu lipoproteinlerin eksik sentezlenmesi ya da protein sentezinde meydana gelen bozukluklar sonucu hepatik trigliseritlerin metabolizmasında meydana gelen hataların morfolojik bir yansıması olarak değerlendirilmektedir (Braunbeck ve ark. 1990).

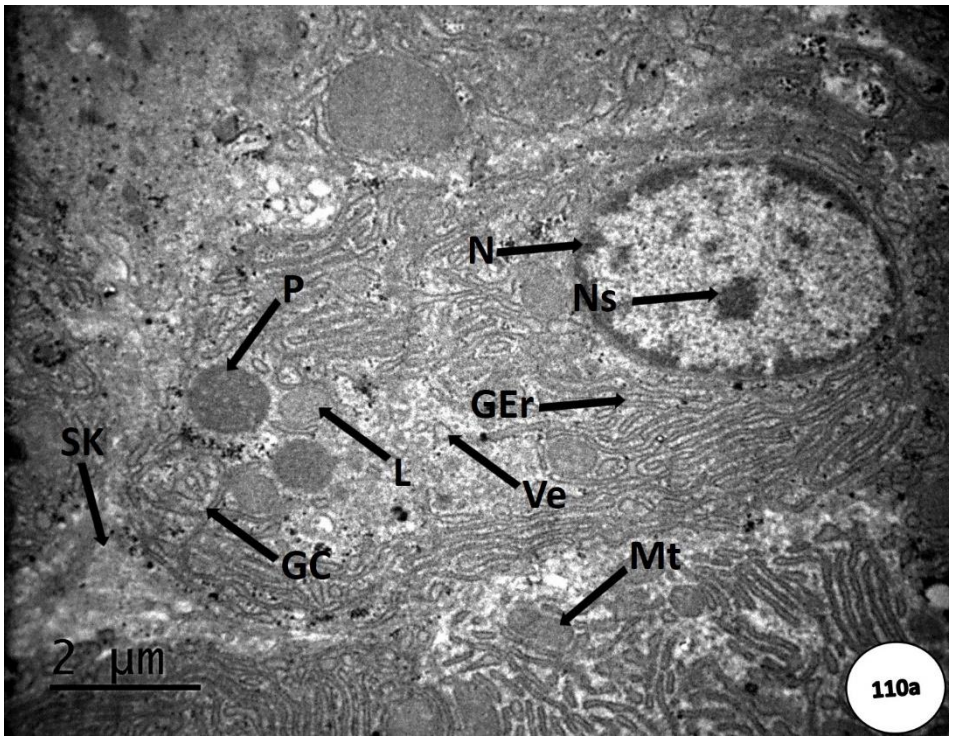
Karaciğer hepatositlerinde meydana gelen hipertrofi genellikle hücrenin ebatça büyümesi olarak tanımlanmaktadır (Hadi ve Alwan 2012). Hepatik hücrelerin toksik kimyasallara maruziyeti sonucu meydana gelen ER membran proliferasyonu, hipertrofiye bir örnek olarak gösterilmektedir (Hinton ve Lauren 1990). Bazı çalışmalarda, kontamine sedimente maruz bırakılan Nil tilapiyası bireylerinin hepatositlerinde hidrofilik şişme rapor edilmiştir (Peebua ve ark. 2006). Figueiredo-Fernandes ve ark. (2007), hepatositlerde meydana gelen hipertrofinin hücrelerdeki yüksek lipid içeriğinden kayanaklanmış olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Diğer taraftan Braunbeck ve ark. (1990) hücre çekirdeğinin şekil ve büyüklük bakımından değişmesinin patolojik kökene dayanan metabolik aktivitede meydana gelen artıştan kaynaklanabileceğini ileri sürmüştür.

Hepatosit sitoplazmasında bulunan vakuoller, normal metabolik faaliyetler ile bağlantılı olarak lipit ve glikojen içerebilirler (Camargo ve Martinez 2007). Hepatositlerde meydana gelen sitopatolojik vakuolizasyon ise sistemik sirkülasyona bırakılan organik maddelerin oranı ile parankimal hücrelerde üretilen organik maddelerin oranı arasındaki dengesizliği gösteriyor olabilir (Gingerich 1982). Pacheco ve Santos (2002) hepatositlerde meydana gelen artan vakuolizasyonun kirlenmiş suya maruziyet sonucu oluşan metabolik hasarı gösteren dejeneratif bir süreç olduğunu bildirmiştir. Hücrelerde oluşan vakuoller, hepatositlere hasar veren maddelere karşı gösterilmiş bir savunma mekanizması olarak düşünülmekte ve bu mekanizmanın hücreye zarar veren tehlikeli kimyasalları içine alarak hücrelerin biyolojik aktivitelerinde kullanılmasını önlemeye yönelik olduğu ileri sürülmektedir (Mollendroff 1973).

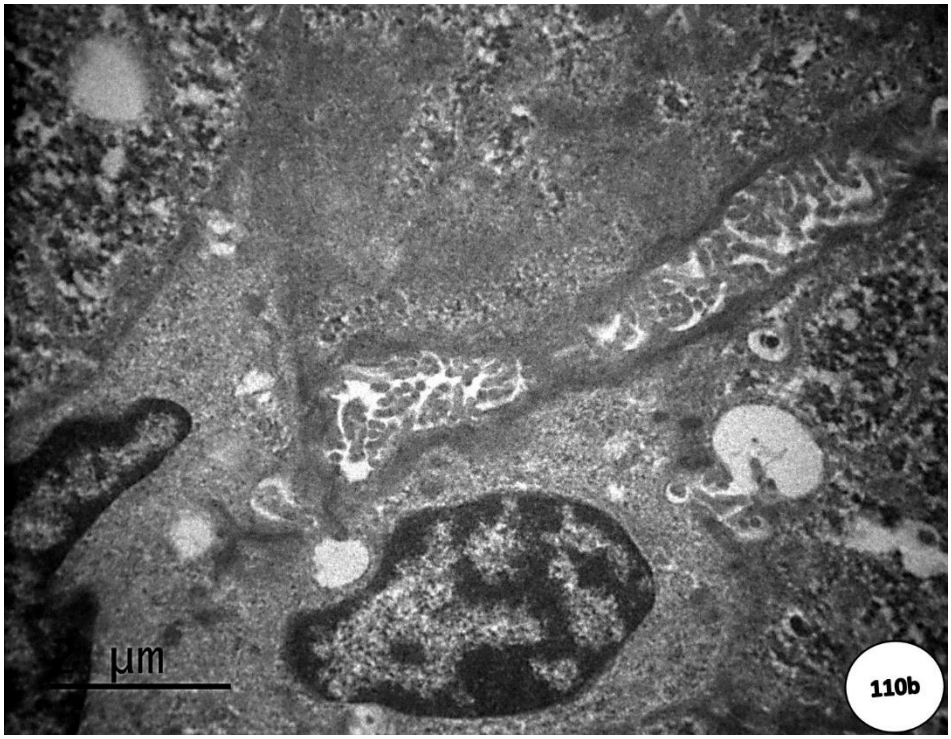
Toksik bazı kimyasallara maruz bırakılmış alabalıkların karaciğerlerinde meydana gelen safra birikimi, bir kirlenmeden depolama ürünlerinin de etkilendiğini göstermektedir ve bu durum maruziyetin olası bir biyobelirteci olarak düşünülmektedir (Takasima ve Hibiya 1995). Karaciğer safra kanallarında safranın atılamaması ve parenkimal dokuya melanomakrofajların filtrasyonu, bu dokunun toksik kimyasallar sonucu hasar aldığının bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Hadi ve Alwan 2012). Safranın atılamaması durumu safranın hepatositlerden sızması ve hücreleın içinde sarımsı kahverengi granüllerin gözlenmesiyle tanımlanmaktadır (Hibiya 1982). Safranın bu şekilde hücrelerin içine sızması hepatik metabolizmada meydana gelen hasarı göstermektedir (Fanta ve ark. 2003). Melanomakrofajların dokuda birikme yoğunluğunun artması dejeneratif ve nekrotik değişiklikler gibi hepatik lezyonlar ile ilgili olduğu bildirilmektedir (Pacheco ve Santos 2002).

Dokularda nekroz varlığı bir kirletici tarafından etkilenen organlarda en sık gözlenen hasardır (Simenova 1999, Rabitto ve ark. 2005). Manahan (1991)'a göre dokularda meydana gelen nekroz aynı zamanda enzimatik inhibisyon, hücresel membran bütünlüğü, karbonhidrat metabolizması ve protein sentezinde meydana gelen bozulmaların olası sonucu olarak değerlendirilmelidir. Karaciğer hücrelerinde meydana gelen nekrozun, karaciğerin büyümesi ve gelişmesi için gerekli olan DNA sentezinde meydana gelen inhibisyondan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir (Sanad ve ark. 1997). Ayrıca, kirleticiler hücre membranlarının moleküler organizasyonunda düzensizlik meydana getirerek hücre zarını degrede etme kapasitesine sahiptirler

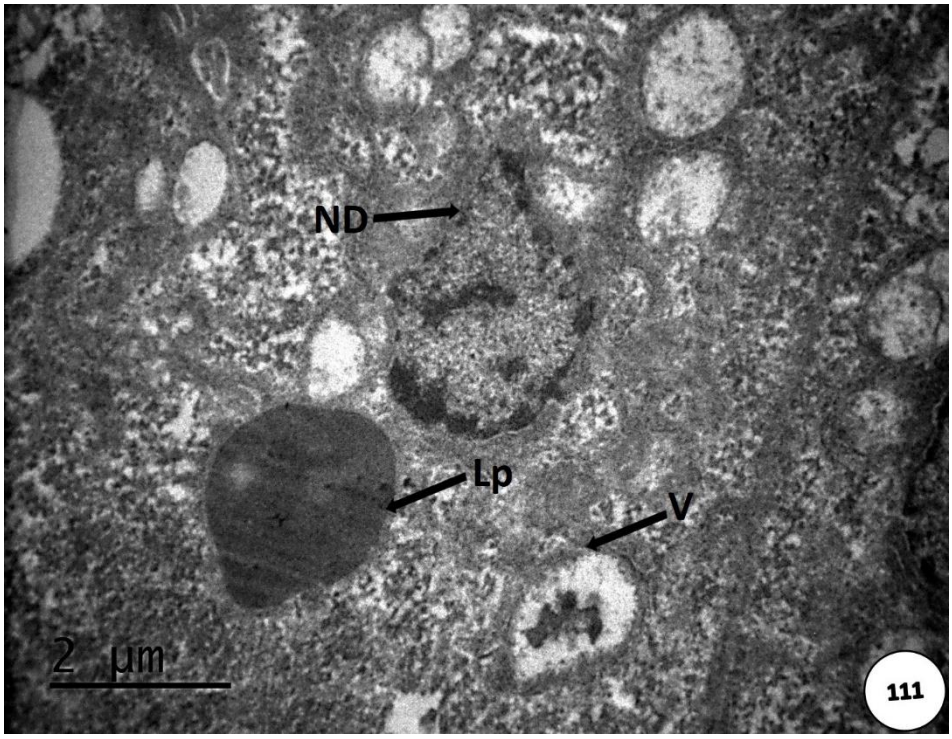
(Byzkowski 1976). Yapılan bir çalışmada civa ve diğer ağır metallere maruz bırakılan *Fundulus heteroclitus* bireylerinin karaciğerinde gözlenen nekrozun artan inflamatuvar yanıtlar ve melanomakrofaj merkezleri ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Schmazl ve ark. 2002). Hücre iskeletinin organizasyonunda meydana gelen bozukluk ve kaos hepatositlerde güçlü bir toksisiteyi göstermektedir (Mela ve ark. 2007).



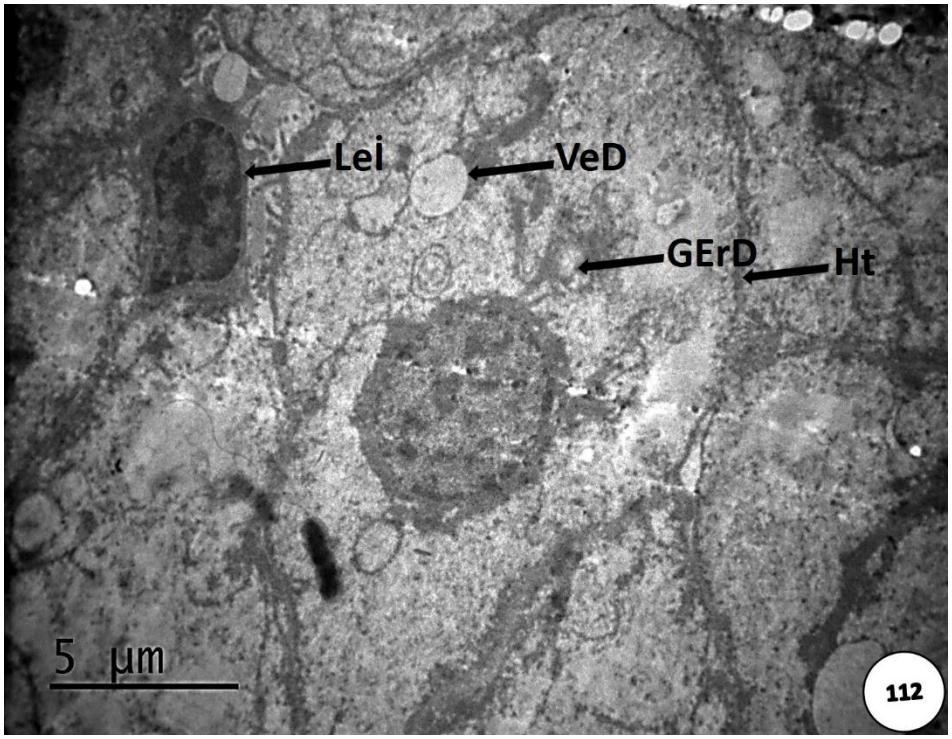
Şekil 4.110a. Kontrol (Grup I) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin hepatositlerine ait yapı: Hepatosit Hücre Çekirdeği (N), Çekirdekçik (Ns), GER (GEr), peroksizom (P), Golgi Cisimciği (GC), lizozom (L), veziküler (Ve) yapılar, mitokondri (Mt), safra kanalı (SK) (21. Gün).



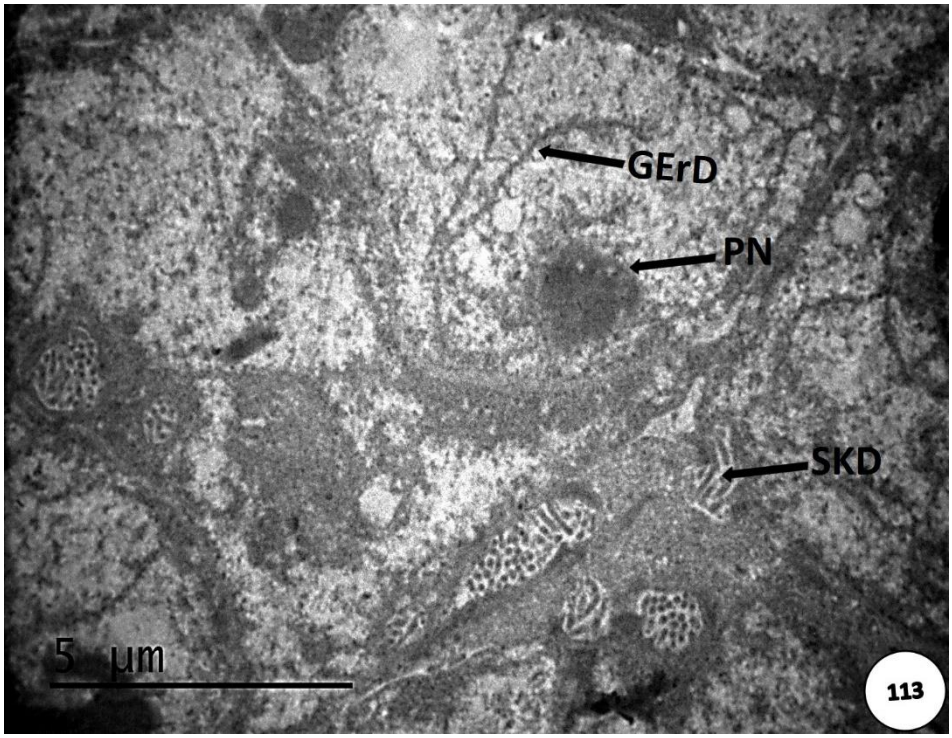
Şekil 110b. Aseton kontrol (Grup II) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin hepatositlerine ait yapı (21. Gün).



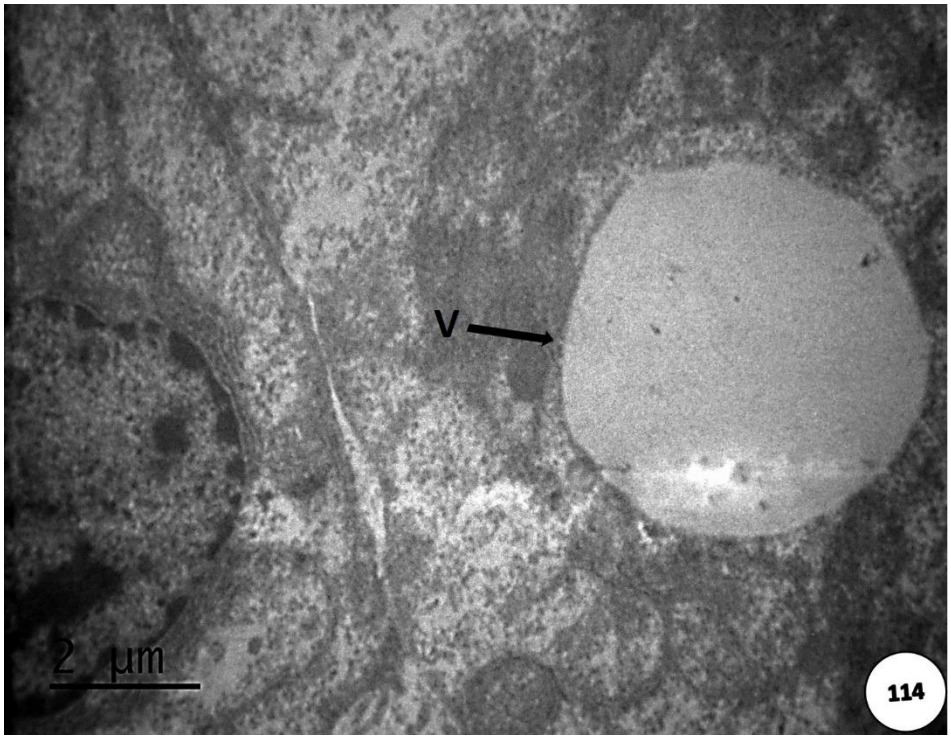
Şekil 111. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Hepatosit çekirdeğinde morfolojik deformasyon (ND), lipopigment birikimi (Lp), vakuolizasyon (V).



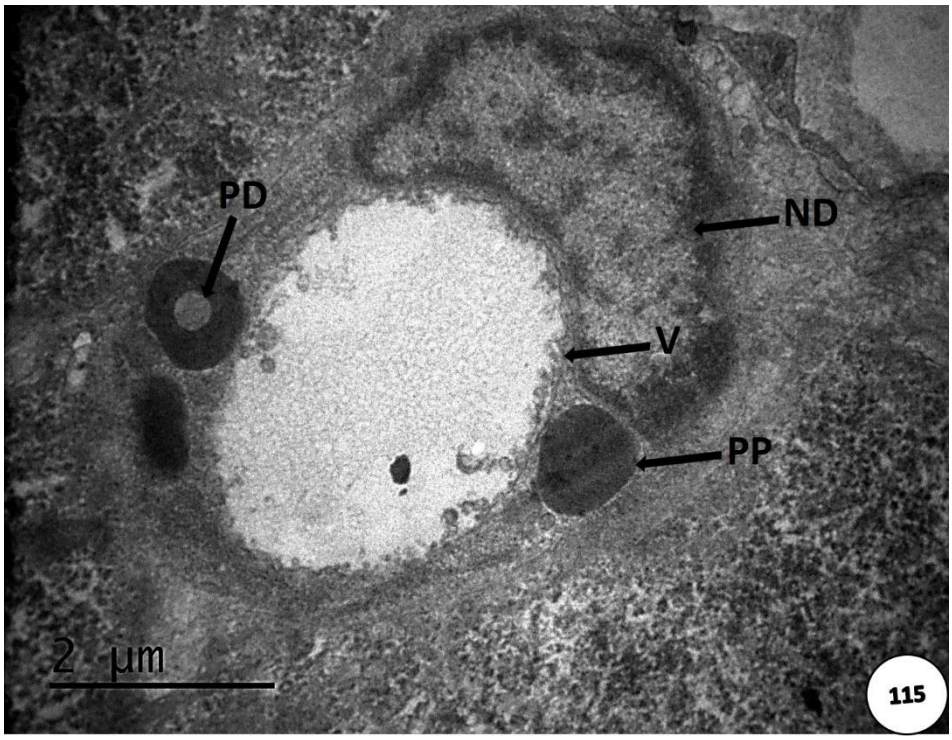
Şekil 112. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Hipertrofik hepatosit (Ht), veziküler dejenerasyon (VeD), GER de deformasyon (GErD), lemfosit infiltrasyonu (Leİ).



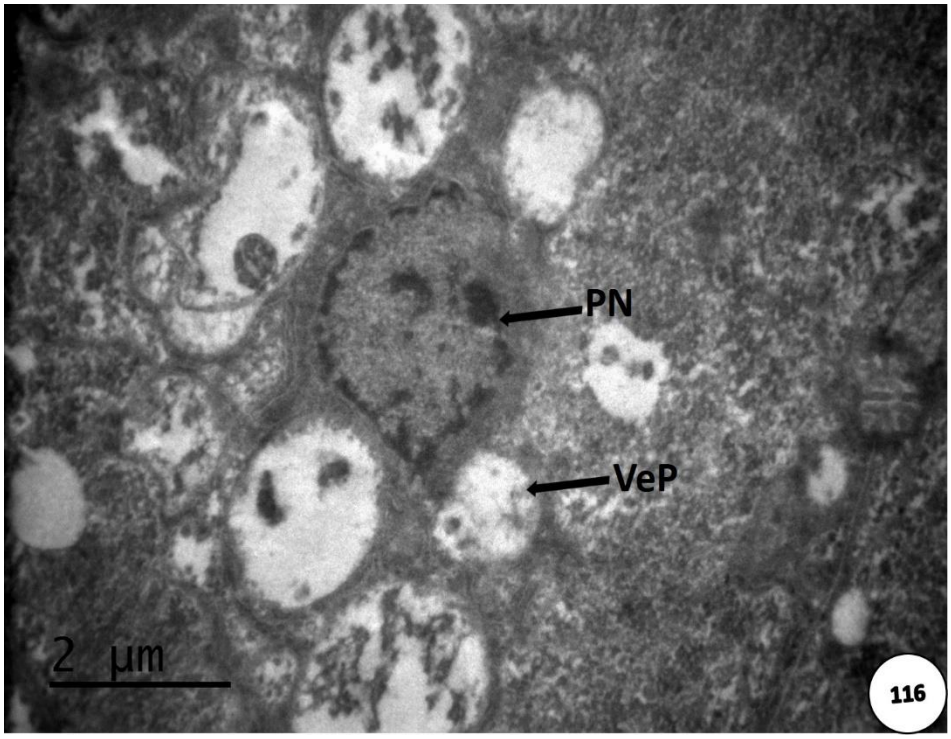
Şekil 113. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: hepatositlerde piknotik çekirdek (PN), safra kanalında deformasyon (SKD), GER de deformasyon (GErD).



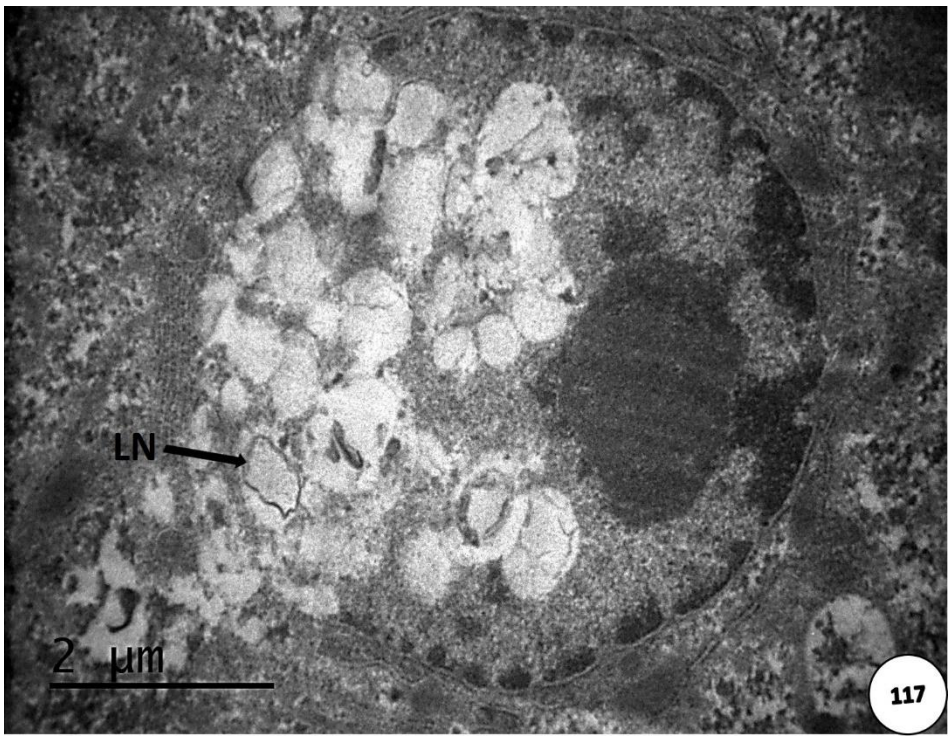
Şekil 114. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: vakuolizasyon (V).



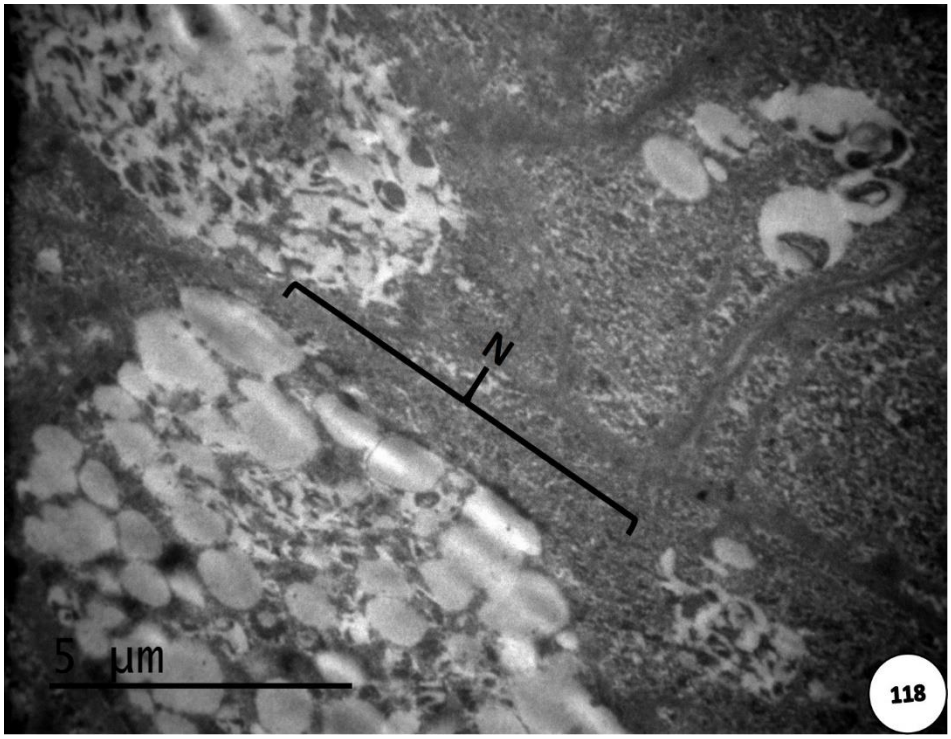
Şekil 115. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: hepatositlerde vakuoler dejenerasyon (V), peroksizom proliferasyonu (PP), peroksizomda morfolojik deformasyon (PD), çekirdek deformasyonu (ND).



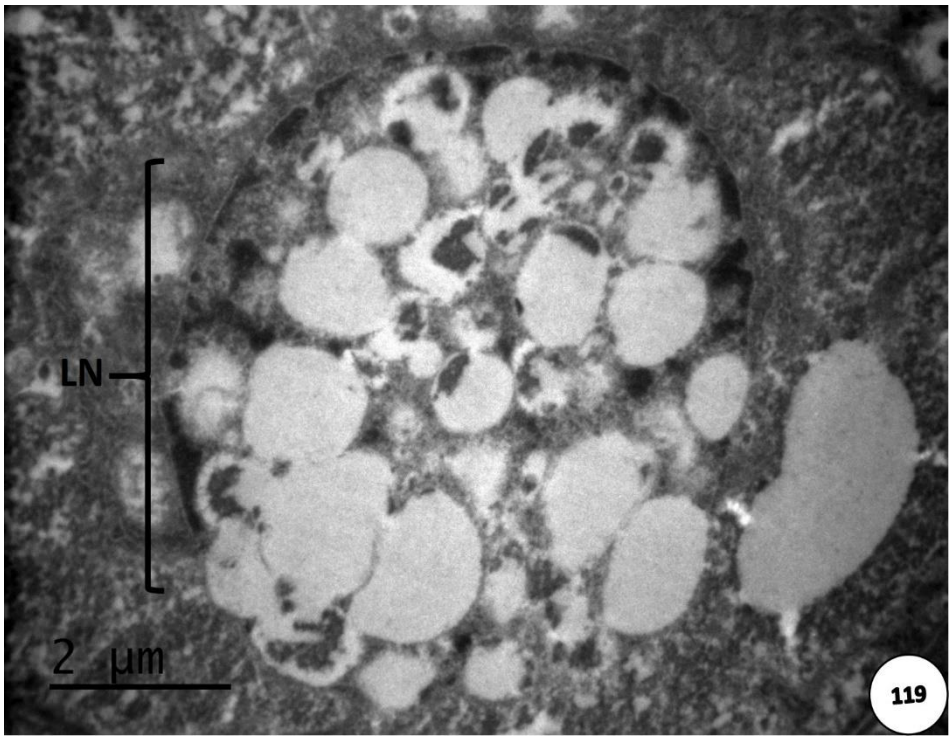
Şekil 116. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: hepatositlerde veziküler proliferasyon (VeP), Piknotik çekirdek (PN).



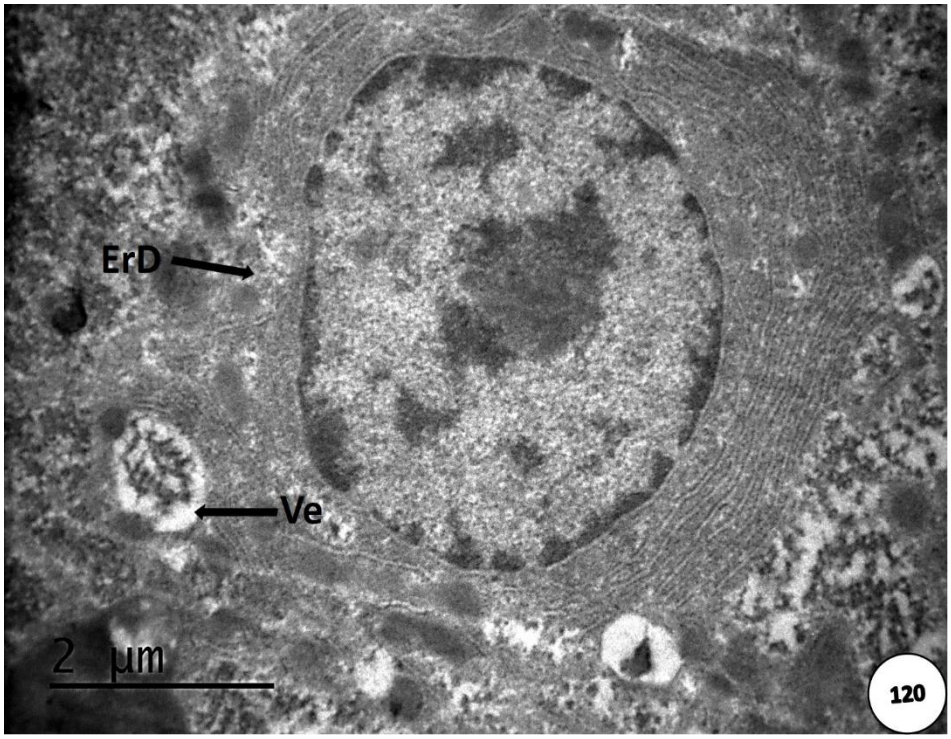
Şekil 117. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Lizise uğramış çekirdek (LN).



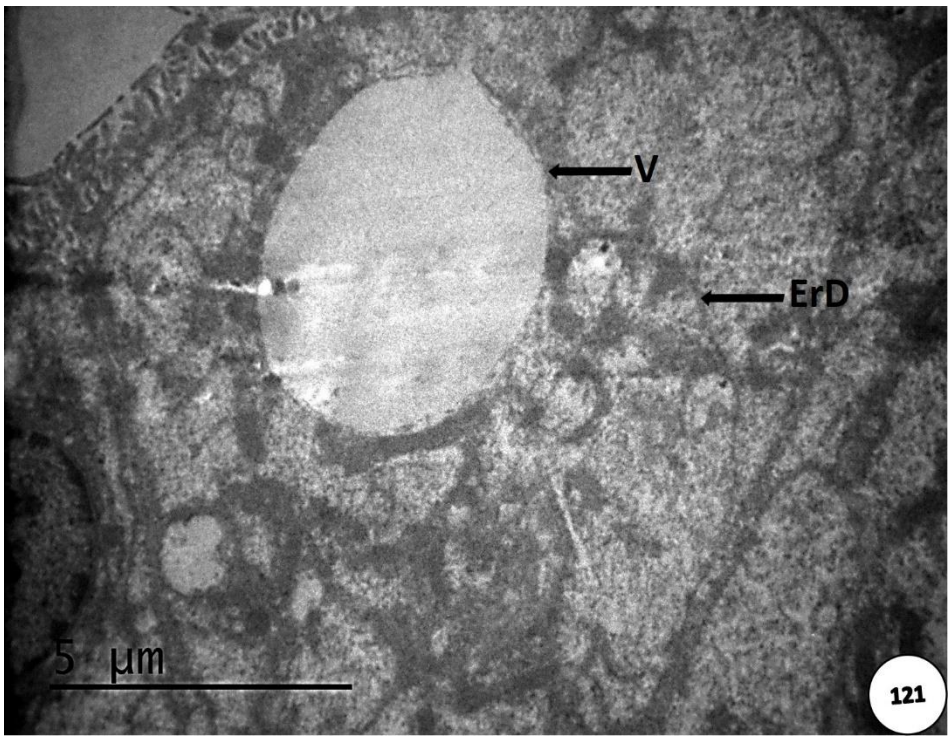
Şekil 118. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: nekroze bölge (N).



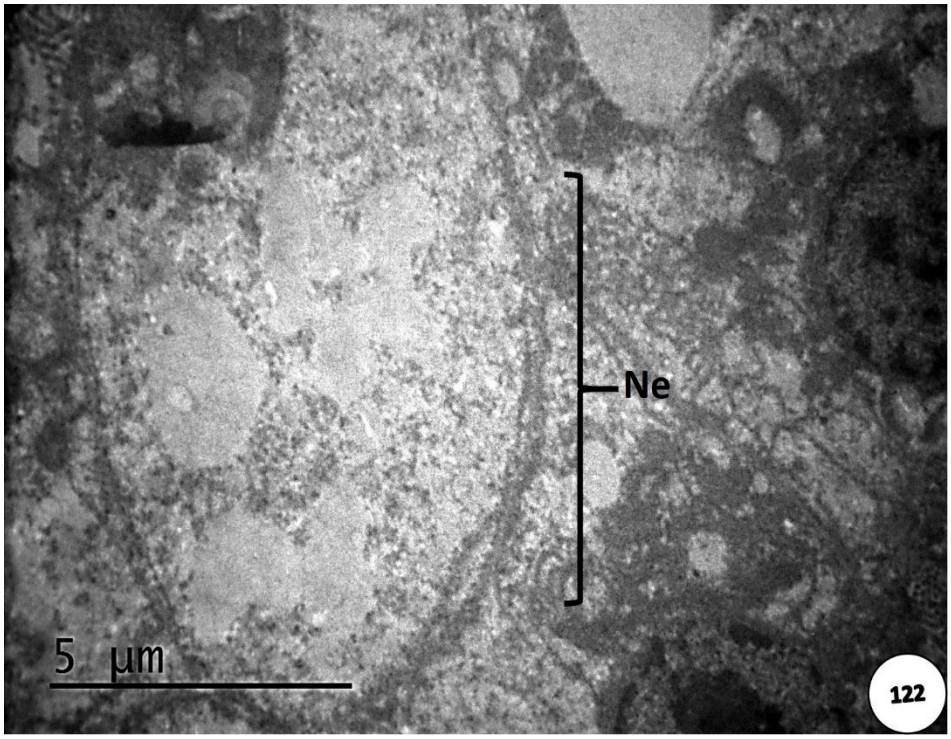
Şekil 119. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: lizise uğramış çekirdek (LN).



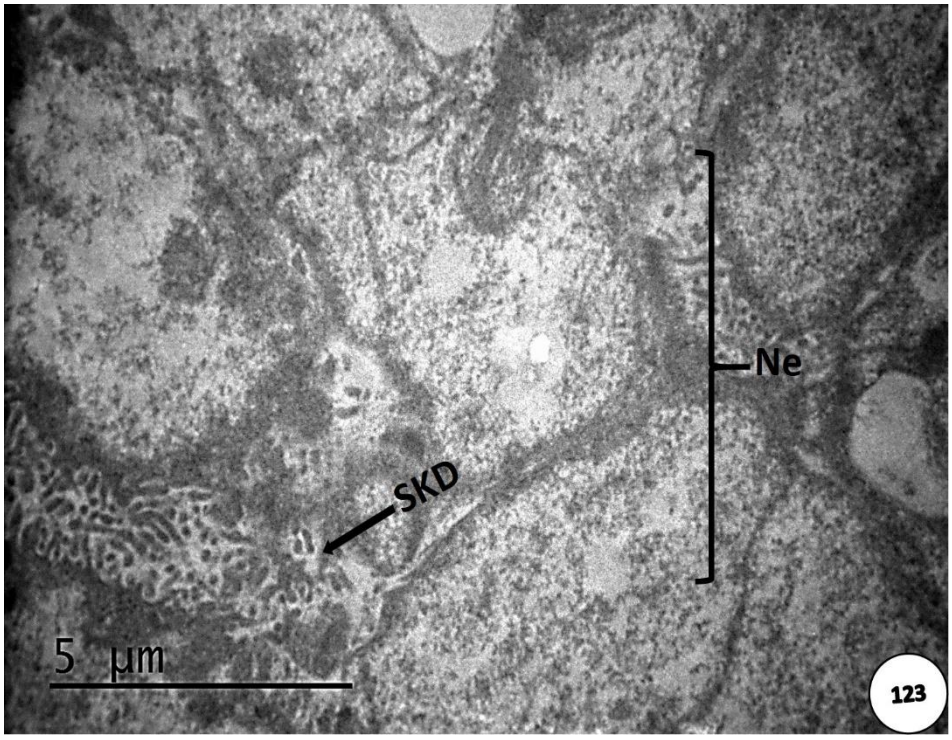
Şekil 120. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: ER de deformasyon (ErD), veziküler yapılar (Ve).



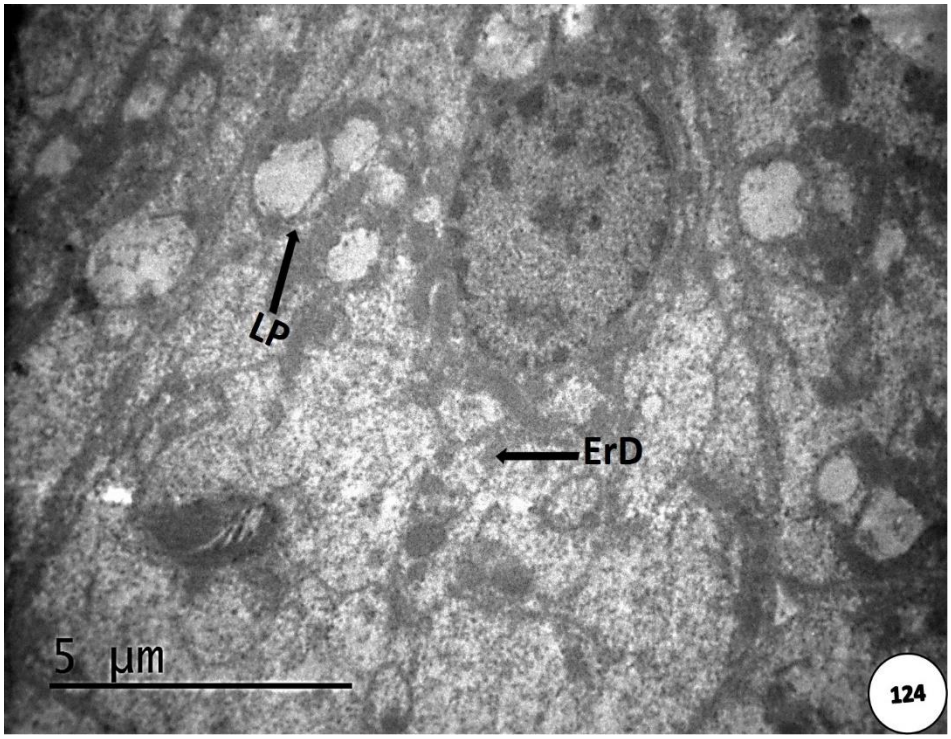
Şekil 121. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: ER de deformasyon (ErD), vakuolizasyon (V).



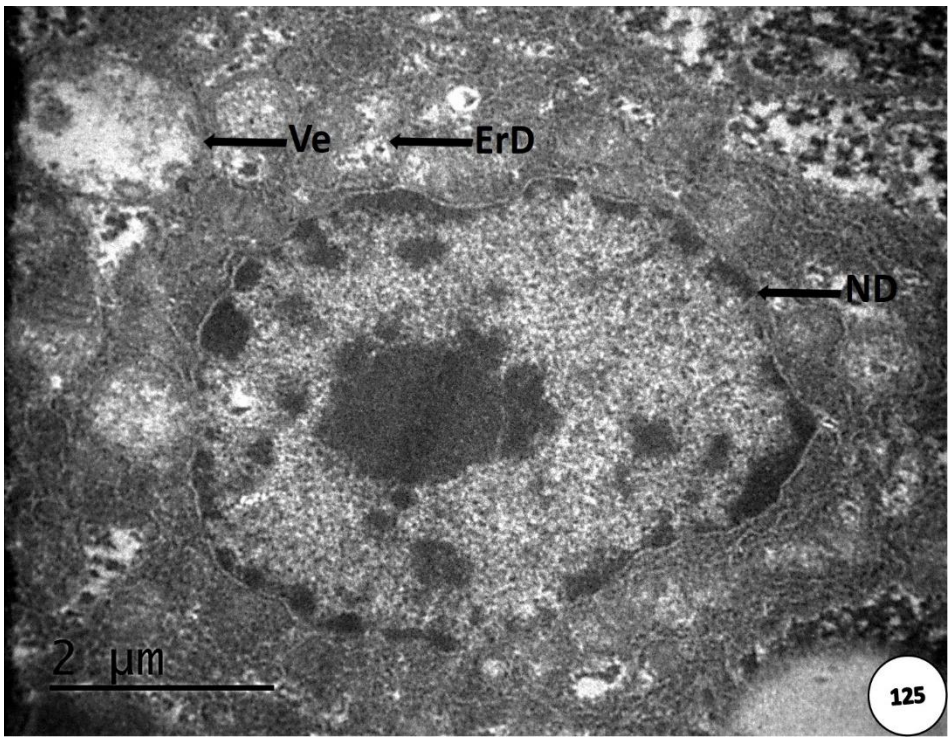
Şekil 122. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: nekroze bölge (Ne).



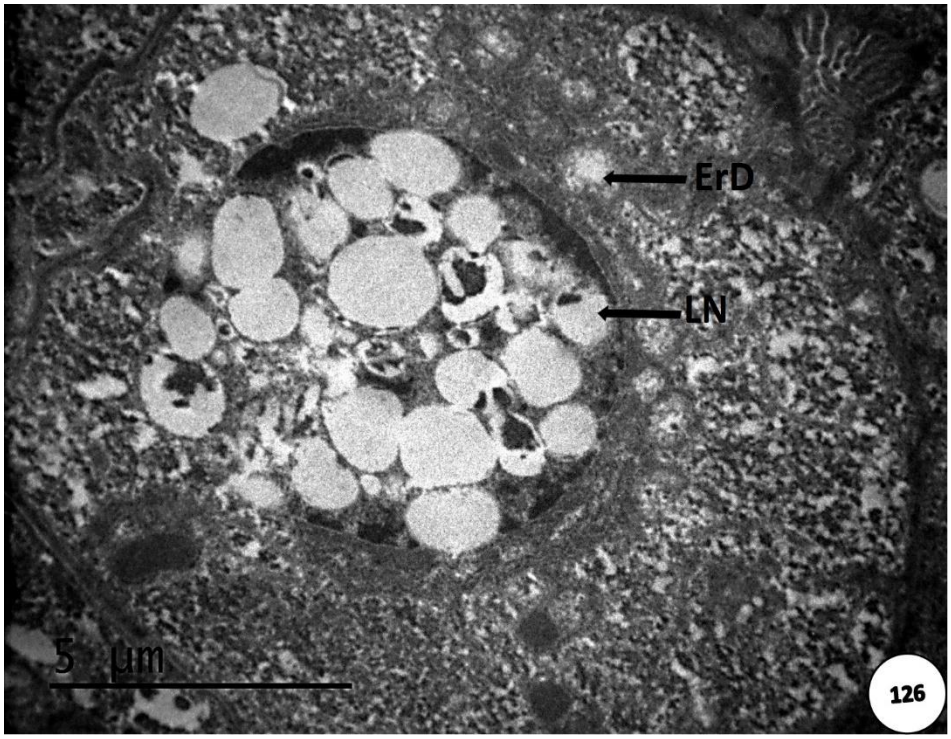
Şekil 123. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: nekroze bölge (Ne), Safra kanalında deformasyon (SKD) .



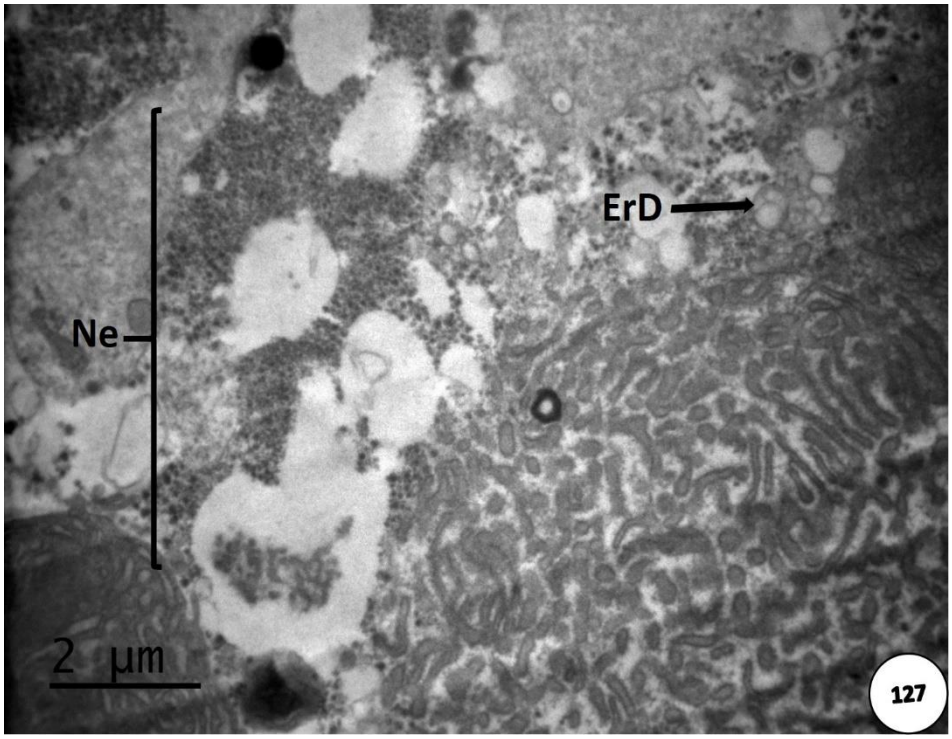
Şekil 124. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: lizozom proliferasyonu (LP), ER deformasyonu (ErD).



Şekil 125. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: veziküler dejenerasyon (Ve), ER lerde deformasyon (ErD), çekirdekte morfolojik deformasyon (ND).



Şekil 126. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Lizise uğramış çekirdek (LN), ER deformasyonu (ErD).



Şekil 127. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin karaciğerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: ER deformasyonu (ErD), nekroze bölge (Ne).

4.2.4. Gonadlar

Genellikle balıklar dişilerde mesovaryum, erkeklerde ise mesorsiyum olarak adlandırılan, vücut boşluğunda uzanan bir çift bilateral gonada sahiptirler. Balık ovaryumları, ovaryum duvarı ile sarılmış kese şeklindeki organlardır. Bu kesenin içinde ovaryum boşluğu ve oogenesisin gerçekleştiği ovaryum lamelleri yer almaktadır. Overyum boşluğu ovidukta bağlanır ve her iki bilateral kısımdan gelen oviduklar genital açıklıkta birleşirler. *O. niloticus* sistovaryan bir balık türü olduğu için bu yapıya sahiptir.

Yüksek omurgalılarda spermatogenezis seminifer tübüllerinde gerçekleşmektedir. Seminifer tübülleri testisin ana yapısını oluşturur ve spermatozoa küçük bir sperm kanalından geçerek üregenital açıklıktan dışarı bırakılırlar. Balıkların testis yapısı genellikle buna benzer ancak bu yapı seminifer tübülünün olup olmamasına göre değişir. *O. niloticus'* da seminifer tübülü bulunmaktadır. Kemikli balıkların testisleri üzerinde yapılan histolojik çalışmalar bazal membran ile birbirinden ayrılmış germinal ve interstitiyal bölümlerden oluştuğunu göstermiştir (Grier ve Uribe 2009). Bu yüzden bir bölümde bulunan hücreler diğer bölümlerde bulunanlar ile karışmamaktadır.

Germinal bölümde bulunan germinal epiteli, eşey (germ) hücreleri ve somatik epitel hücreleri (Sertoli Hücresi) olmak üzere iki tip hücreden oluşmaktadır. Sertoli hücreleri bütün omurgalı canlılar arasında homologtur ve germinal bölümün kenar hücrelerinden köken alırlar (Grier ve ark. 2005). Bütün epitellerde olduğu gibi, Sertoli hücreleri epitel hücrelerini temel dokudan ayıran, destekleyici doku, bazal membran üzerinde bulunur. Eşey hücreleri ise ya Sertoli hücrelerinin arasında ya da Sertoli hücreleri tarafından sarılmış halde bazal membran ile kontak yapmadan dokuda yer alır (Uribe ve ark. 2014). Eşey hücreleri spermatogenik hücrelerin her aşamasında olabilir. Testislerde spermatogenez spermatagonyumların mitotik artışı ile başlar, iki mayoz bölünme ile devam eder ve haploid spermatidlerin spermatozoaya dönüştüğü spermiyogenesis ile son bulur (Schulz ve ark. 2010).

Kemikli balıklarda spermatogenez, diğer omurgalı canlılara göre belirgin farklar içerir. Balıklarda spermatogenez, Sertoli hücreleri tarafından sarılmış ve senkronize olarak bölünen eşey hücrelerini içinde barındıran bir kapsüler yapıda gerçekleşir (Billard 1986, Grier 1993). Bu tür kapsüler yapı, balıklar ve amfibiler için tipiktir (Grier 1981, Uribe 2009). Kapsül oluşumu, Sertoli hücrelerinin sitoplazmik uzantılarının bir

spermatogonyumu çevrelemesi ile başlar. Spermatogenez sırasında kapsül içerisindeki eşey hücrelerinin ve buna bağlı olarak her kapsül başına Sertoli hücrelerinin sayısı hızlıca artmaya başlar (Schulz ve ark. 2005).

Bütün kemikli balıklarda spermatogenez sırasında spermatogonyumlar, Sertoli hücreleri ile birlikte lateral olarak uzanan yapılar ile germinal bölüme bağlanırlar. Bu yapılar spermatogenez boyunca eşey hücrelerini sararak bu hücreleri bazal membrandan ve lobuler lümenden izole ederler (Uribe ve ark. 2014). Bu durumda ilk olarak Sertoli hücre uzantıları tek bir spermatogonyumu sarar. Spermatogonyumlar mitoz ile bölündükten sonra, Sertoli hücre uzantıları mayoz bölünmenin ve spermatogenezin meydana geldiği bir kapsülün içinde spermatogonyumların ya da spermatositlerin isogenik bir kolonisini sarar. Spermatogenez boyunca Sertoli hücreleri gelişmekte olan eşey hücrelerine besin sağlar ve geçirgen bir membran görevi görür (Grier 1993). Ayrıca, Sertoli hücreleri gelişen spermatidlerin arta kalan yapılarını fagosite eder (Grier ve ark. 1989, Patino ve ark. 1995).

Balık testislerinin interstitiyal bölümü, Leydig hücreleri ve bağ dokudan oluşmaktadır. Bağ dokusu fibroblast, makrofaj ve lenfosit gibi bağışıklık hücreleri, kollajen lifleri, miyoid hücreleri, kan damarları ve sinir uzantıları içerir. Leydig hücreleri ise özellikle kan damarlarının etrafında yer alır ve testesteron üretiminden sorumludur (Grier ve Linton 1977, Billard 1986, Fawcett ve Jensh 2002).

Yaptığımız çalışmada 21 gün boyunca *O. niloticus* bireylerinin testis ultrasütrüktüründe herhangi bir değşiklik gözlenmemiştir (Şekil 4.128a,b ve Şekil 4.129a,b).

4.2.4.1. Carbaryl Grubunda (Grup III) Belirlenen Sitopatolojik Bulgular

850 µg/L Carbaryl'e 7 gün boyunca maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testis dokularının ultrasütrüktürel incelemesinde düzensiz genetik materyale sahip spermatozoa belirlenmiştir (Şekil 4.130).

14. Günde testis dokusunda nekroz ve mast hücresi infiltrasyonu gözlenmiştir (Şekil 4.131).

21. Günün sonunda testis seminifer tübül hücrelerinde atrofi ile birlikte (Şekil 4.132) testis dokusunda olgunlaşmamış spermatozoa şiddetli nekroz belirlenmiştir (Şekil 4.133).

4.2.4.2. Diazinon Grubunda (Grup IV) Belirlenen Sitopatolojik Bulgular

280 µg/L Diazinon kosantrasyonuna maruz kalan canlıların 7. günde testis dokusunda kuyruksuz ve düzensiz genetik materyale sahip spermatozoalar ve mast hücresi infiltrasyonu gözlenmiştir (şekil 4.134 ve 4.135).

14. günde Diazinon'a maruz kalan canlıların spermatogonyum hücre iskeleti yapısında deformasyon belirlenmiştir (Şekil 4.136).

21. günde testis dokusunda nekroze bölgeler görülmektedir (Şekil 4.137).

4.2.4.3. Lambda-cyhalothrin Grubunda (Grup V) Belirlenen Sitopatolojik Bulgular

0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e 7 gün boyunca maruz kalan canlıların testislerinde mast hücresi görülmektedir (şekil 4.138).

14. günün sonunda spermatogonyumlarda vakuolizasyon ve çekirdekte morfolojik deformasyon gözlenmiştir (Şekil 4.139).

21. günde testis dokusunda nekroze bölgeler görülmektedir (Şekil 4.140).

4.2.4.4. Atrazin Grubunda (Grup VI) Belirlenen Sitopatolojik Bulgular

0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin 7 gün sonunda testis spermatogonyumlarında, mitokondri krista deformasyonu belirlenmiştir (Şekil 4.141).

14. günde testis spermatogonyumları mitokondrilerinde şişme gözlenmiştir (Şekil 4.142).

21. günde testis dokusu spermatogonyumlarında nekrotik vezikülasyon, piknotik çekirdek ve mitokondri deformasyonu görülmektedir (Şekil 4.143).

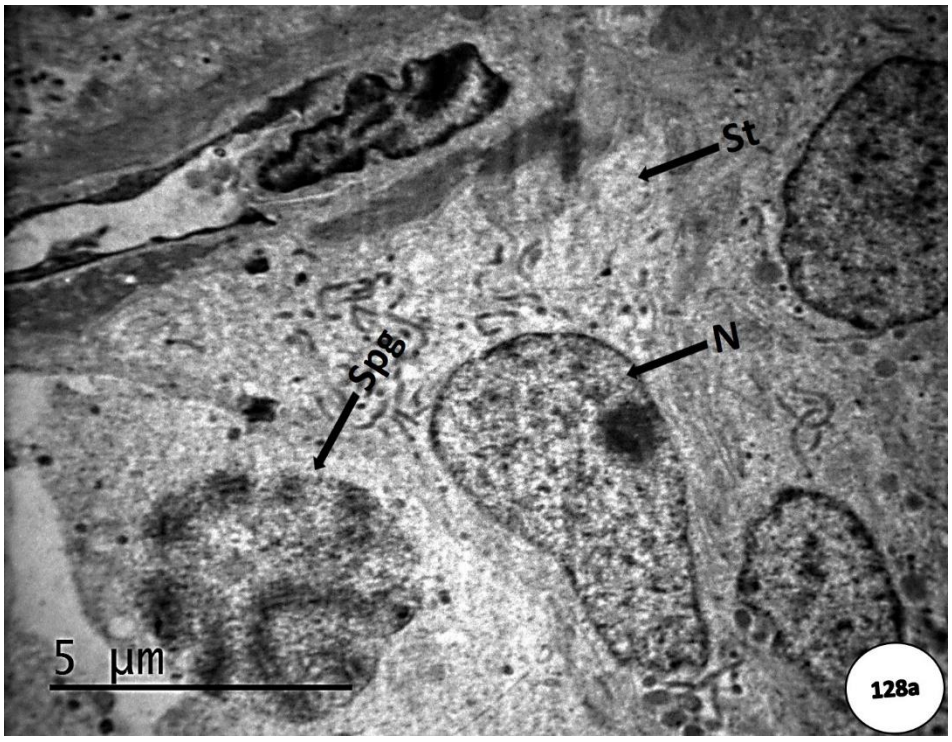
Balıklarda testis, hücre yenilenmesinin çok fazla olduğu dinamik bir organdır. Bu yüzden testisler, özellikle üreme dönemlerinde, birçok kimyasal toksine karşı hasastırlar (Sadekarpawar ve Parikh 2013). Yapılan çalışmalarda Diazinon uygulanan *Lepomis macrochirus* bireylerinin testis yapısında histopatholojik değişiklikler rapor edilmiştir

(Dutta ve Meijer 2003). Araştırmacılar bu kimyasalın canlıların seminifer tübül ve eşey hücrelerinin büyüklüklerinde değişiklikler meydana getirdiğini bildirmişlerdir. Aynı bulgular Jorsaraei ve ark. (2009) tarafından ratlar üzerinde yapılan çalışmada da tespit edilmiştir. Aynı araştırmacılar bu bulguların yanı sıra eşey hürelerinin sayısında da önemli bir düşüş olduğunu bildirmişlerdir. Eşey hücreleri spermatogenezisin başlaması için önemli olduğundan, bu hücrelerin sayısında meydana gelen düşüş, oluşacak spermatozoaların sayısında bir azalmaya sebep verebilir (Dutta ve Meijer 2003).

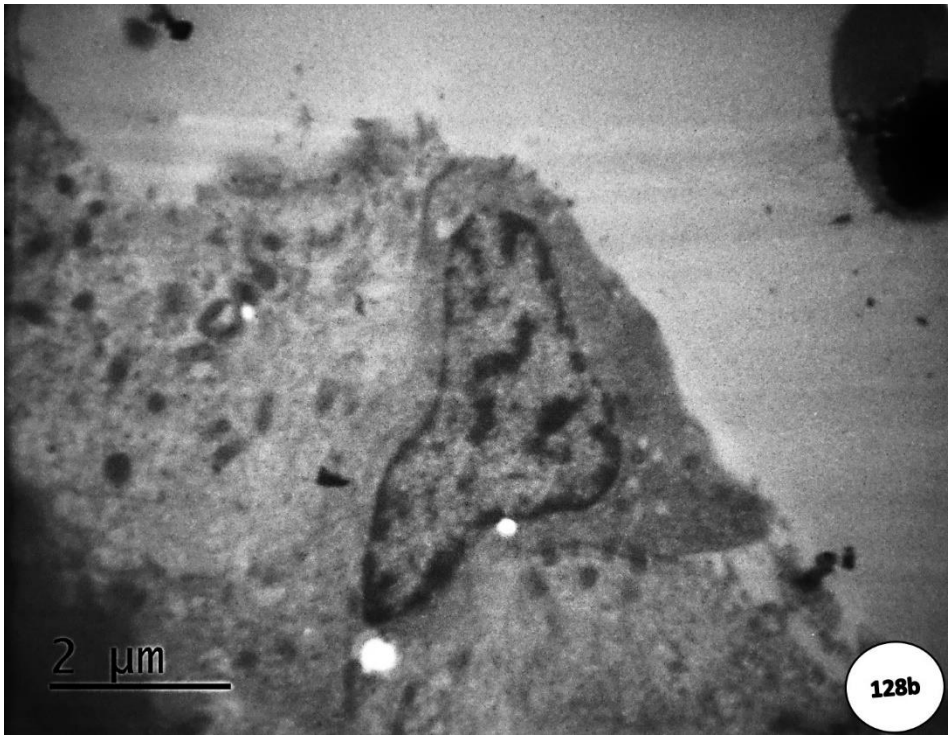
Contreras ve ark. (2006) fareler üzerinde organo fosfat bir insektisitin etkisini incelemişler ve bu insektisitin bu canlıların Leydig hücrelerinin sayısında azalmaya neden olduğunu rapor etmişlerdir. Testis hücrelerinde bulunan Leydig hücreleri testesteron üretim merkezleridir. Bu steroid hormon spermatogenisisin devamı, erkek birey özelliklerinin ortaya çıkmasında ve üreme veririmliliğinde önemli bir rol oynamaktadır (Contreras ve ark. 2006). Yapılan çalışmalar Leydig hücre sayısının azalmasının testesteron üretimindeki düşüş ile yakından ilgi olduğunu ve bu durumun spermatogenesiste bozulmalara yol açtığını öne sürmektedir (Dutta ve Meijer 2003, Maxwell ve Dutta 2005). Kurodak ve ark. (1992), Diazinon'un canlıların testislerinde mitotik toksisite meydana getirerek hücre hasarlarına neden olduğunu, kromatinde ve DNA'da bozulmalar meydana getirdiğini bildirmiştir. Bazı araştırmacılar, Leydig hücrelerinde meydana gelen bozulmalardan kaynaklı testesteron düşüşünün, hücrelerde oluşan bu tür hasarların bir sonucu olarak değerlendirmektedir (Abdel-Aziz ve ark. 1994, Contreras ve ark. 2006).

Yapılan bir çalışmada Carbaryl uygulanan *Channa punctatus* bireylerinin ganotropin salgılayıcı hormonlarında düşüş yaşandığı gözlenmiştir (Gosh ve ark. 1990). Araştırmacılar bu pestisitin üreme verimini düşürdüğünü bildirmişlerdir. Rorh ve McCoy (2010) yaptıkları bir çalışmada birçok çalışmada Atrazin'in balıkların gonadal morfolojisini, fonksiyonunu, cinsiyet hormonu değerlerini ve spermatogenezi değiştirdiğini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmalar bu pestisitlerin balık gonadlarının histolojik yapısını da bozabileceklerini gösterdikleri için önemlidir. Diazinon'un balık testislerinde histolojik değişikliklere neden olduğuna dair literatürde çalışmalar mevcuttur. Yapılan bir çalışmada araştırmacılar *Lepomis macrochirus* türüne ait bireyleri 2 hafta boyunca Diazinon'un belirli konsantrasyonlarına maruz bırakmışlardır (Dutta ve Meijer 2003). Çalışma sonunda araştırmacılar histopatolojik bulguları sperm hücrelerinin

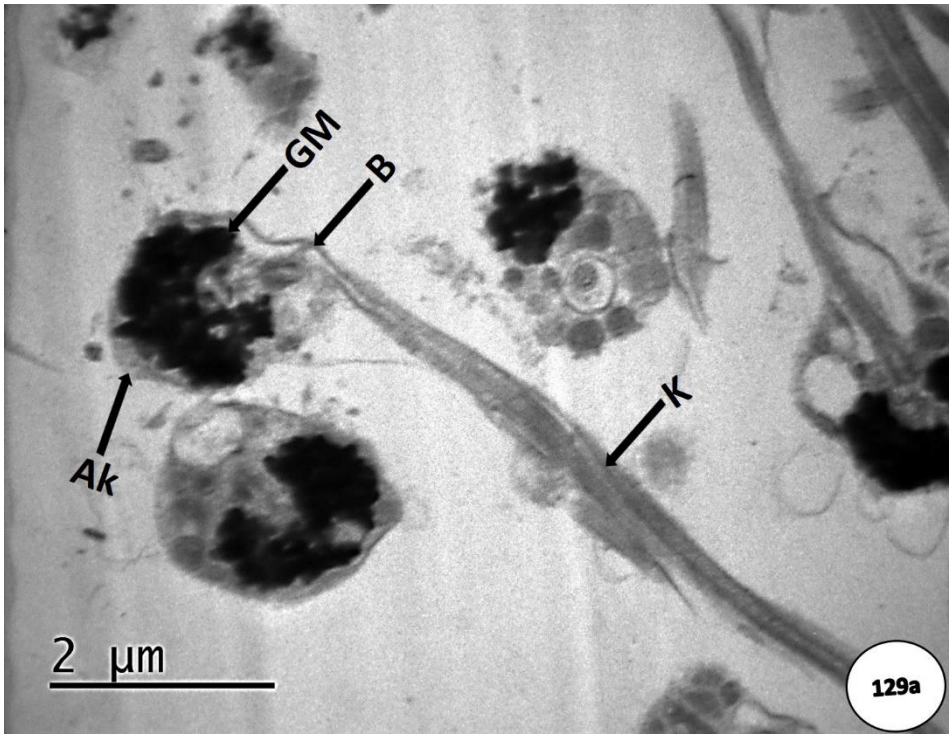
büyümesi, seminifer tübül lümeninde atrofi, seminifer tübül hücrelerinin bazal laminadan ayrılması olarak bildirmişlerdir. Bu bulgular yaptığımız bu çalışmayı desteklemektedir.



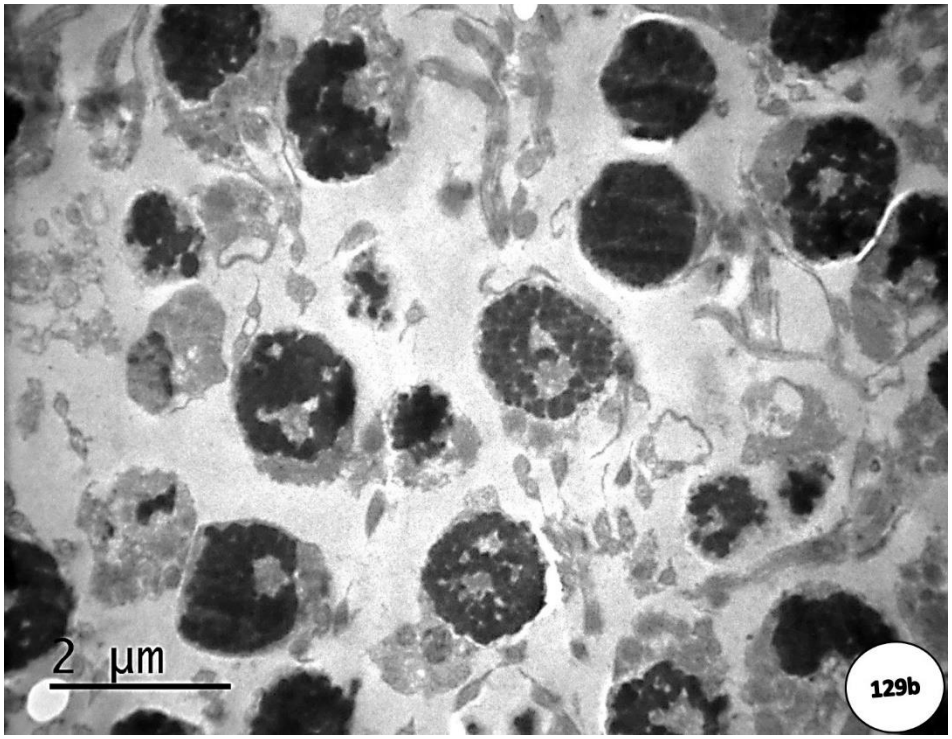
Şekil 4.128a. Kontrol (Grup I) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin Sertoli hücrelerinin yapısı: Sertoli hücresi sitoplazması (St), Sertoli hücresi hücre çekirdeği (N), Spermatogonyum (Spg) (21. Gün).



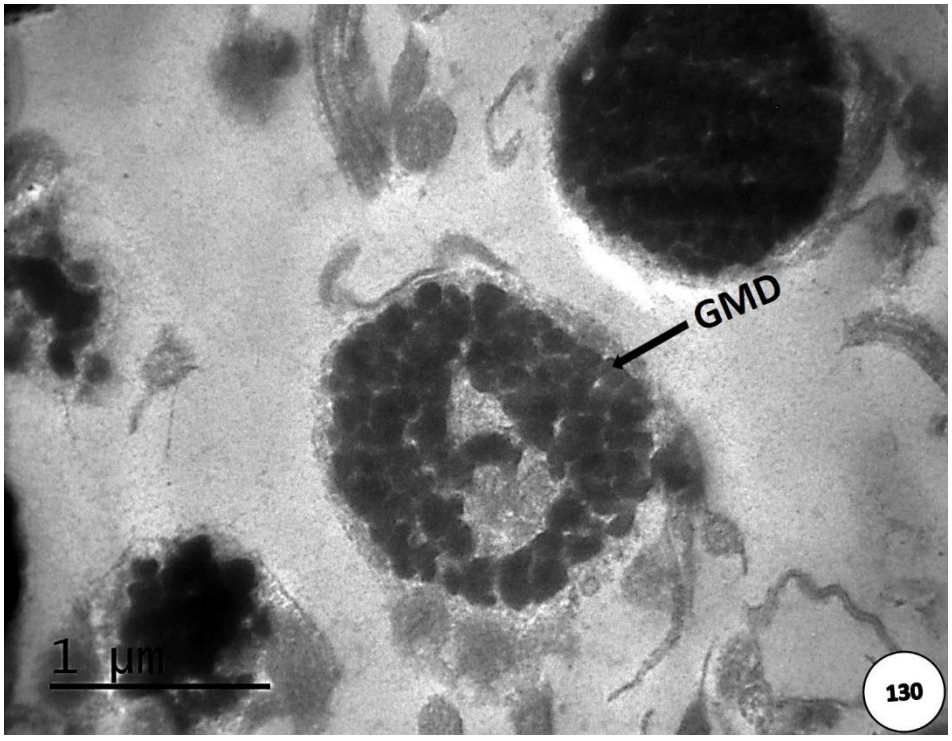
Şekil 4.128b. Aseton kontrol (Grup II) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin Sertoli hücrelerinin yapısı (21. Gün).



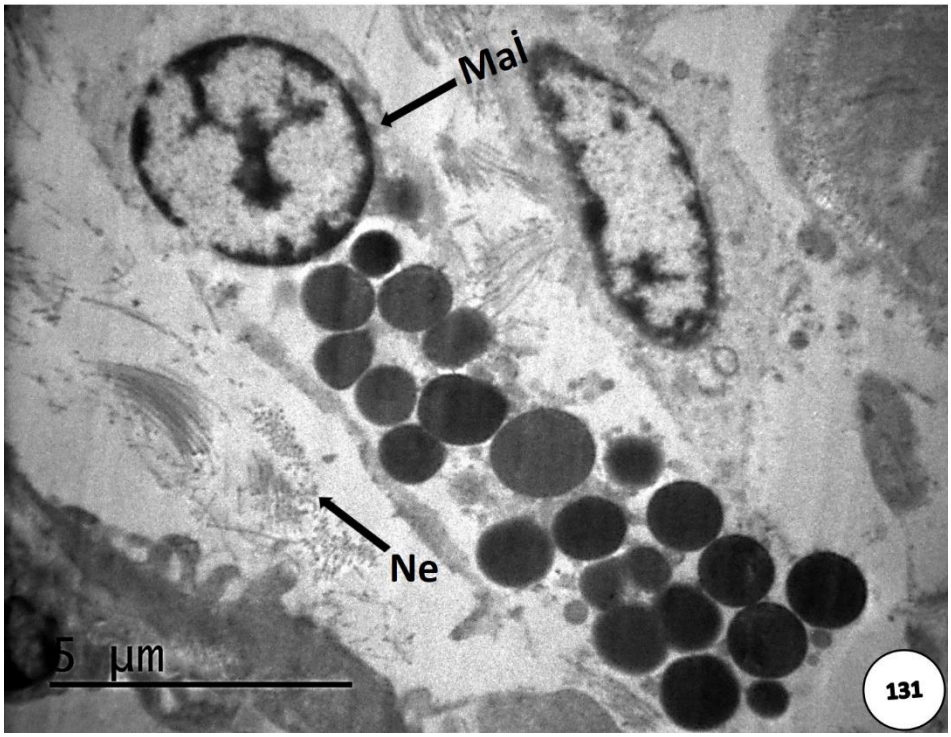
Şekil 4.129a. Kontrol (Grup I) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin spermlerinin yapısı: Akrozom (Ak), Genetik materyalin olduğu baş kısmı (GM), Boyun (B), Kuyruk (K) (21. Gün).



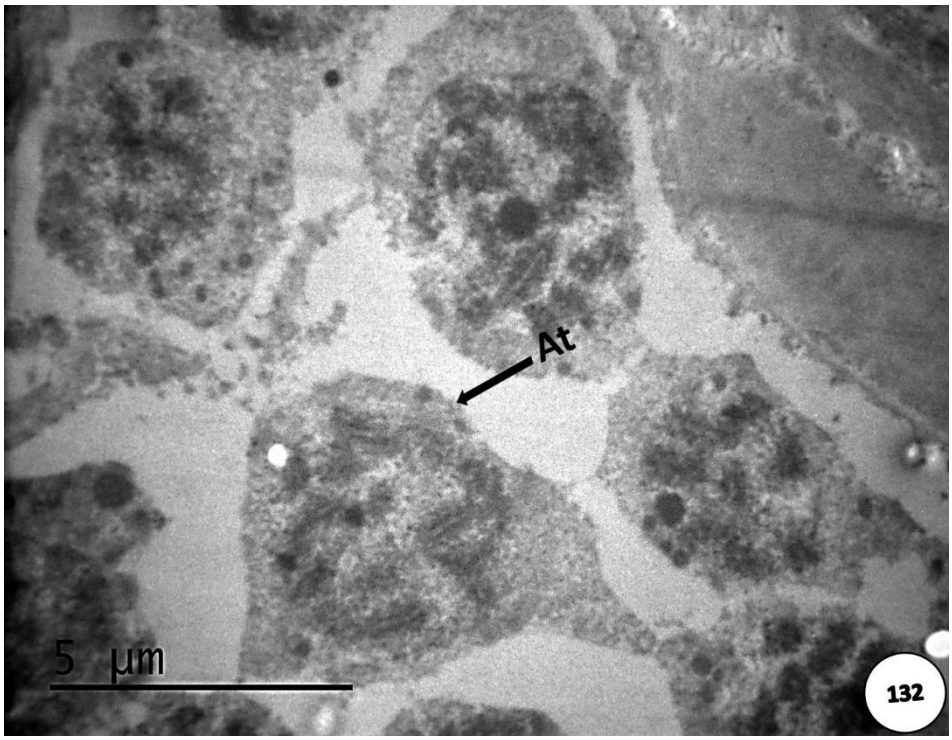
Şekil 4.129b. Aseton kontrol (Grup II) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin spermlerinin yapısı (21. Gün).



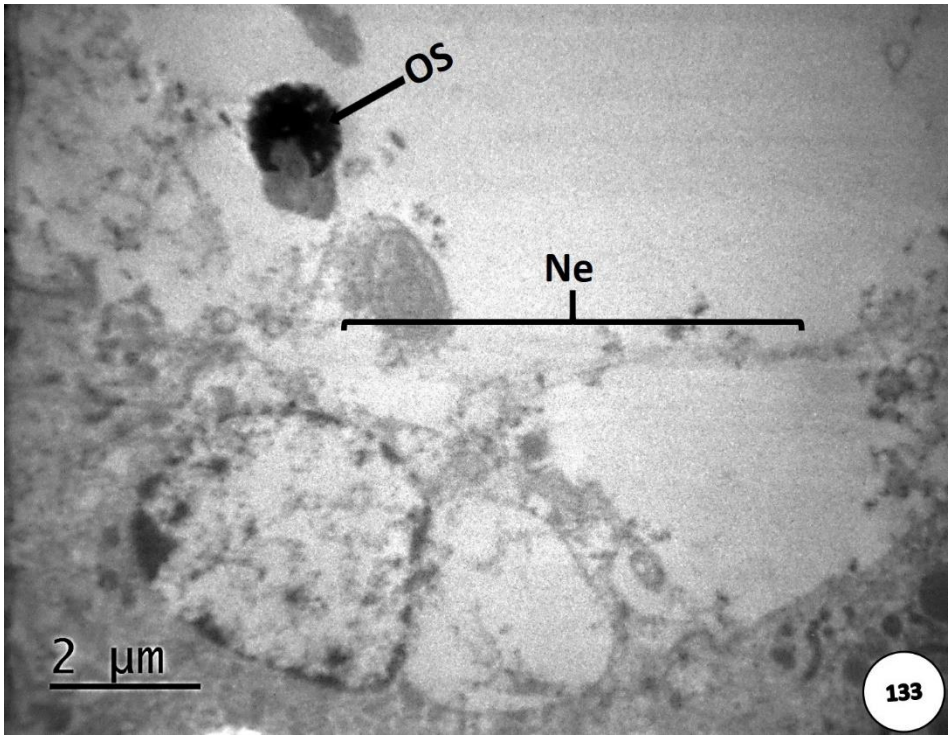
Şekil 4.130. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: spermatozoada genetik materyal deformasyonu (GMD).



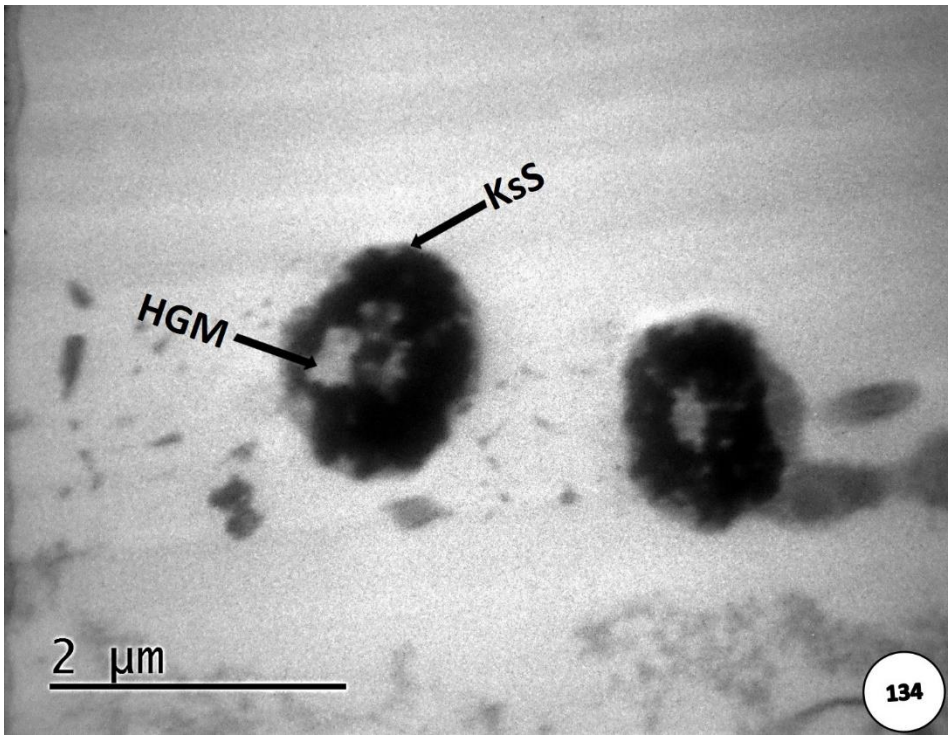
Şekil 4.131. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Mast hücresi infiltrasyonu (Maİ), nekroze bölge (Ne).



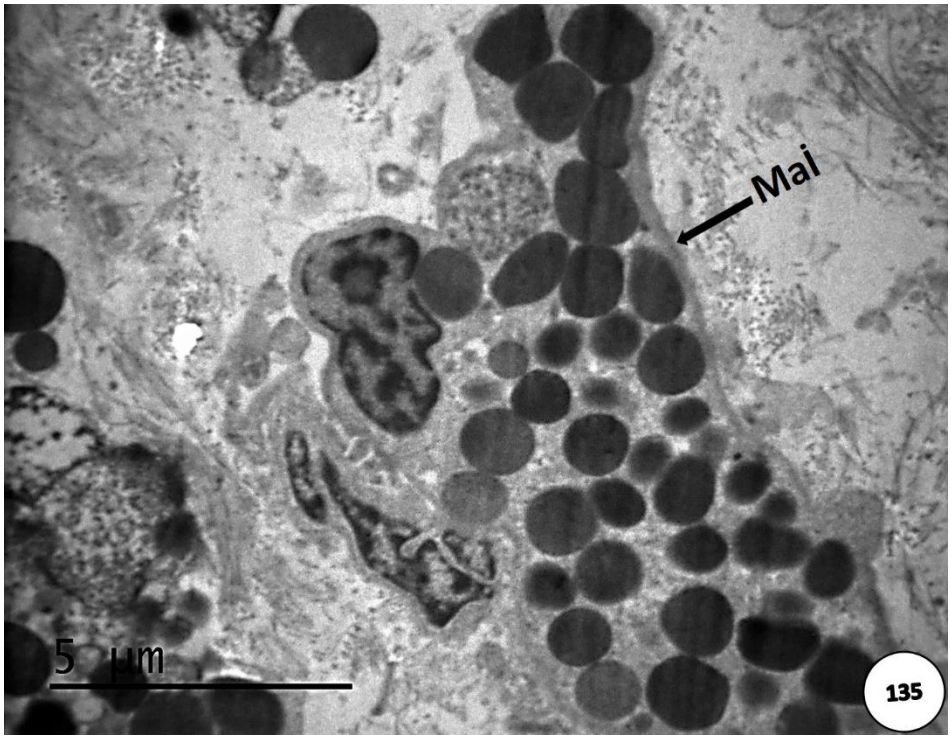
Şekil 4.132. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Spermatogonyumlarda atrofi (At).



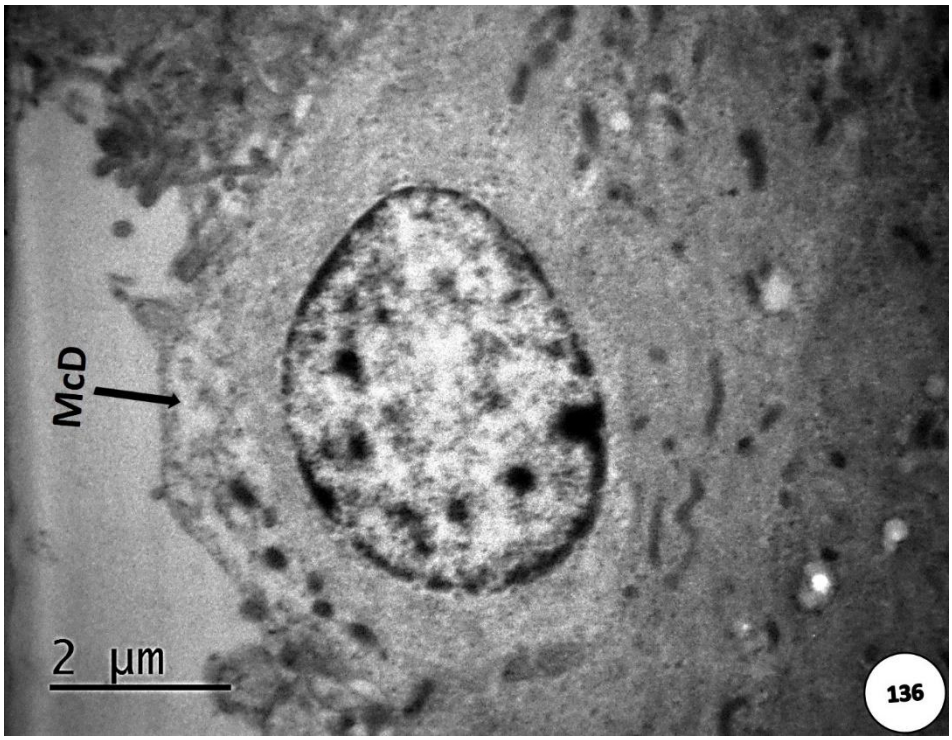
Şekil 4.133. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: Nekroze bölge (Ne), olgunlaşmamış spermatozoa (OS).



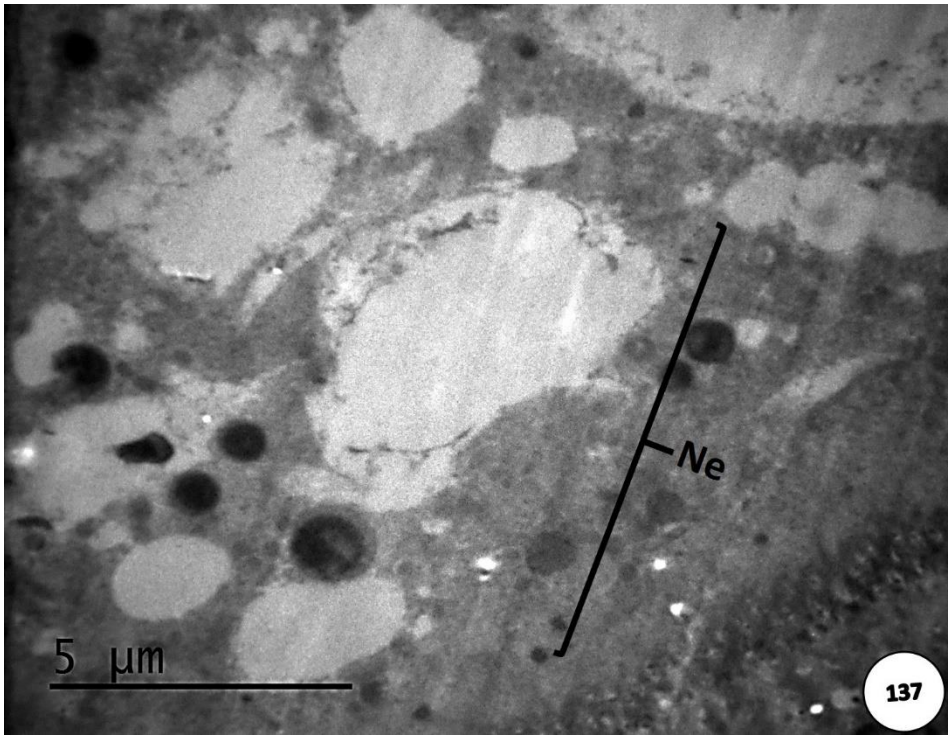
Şekil 4.134. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: kuyruksuz spermatozoa (KsS), heterojen genetik materyal (HGM).



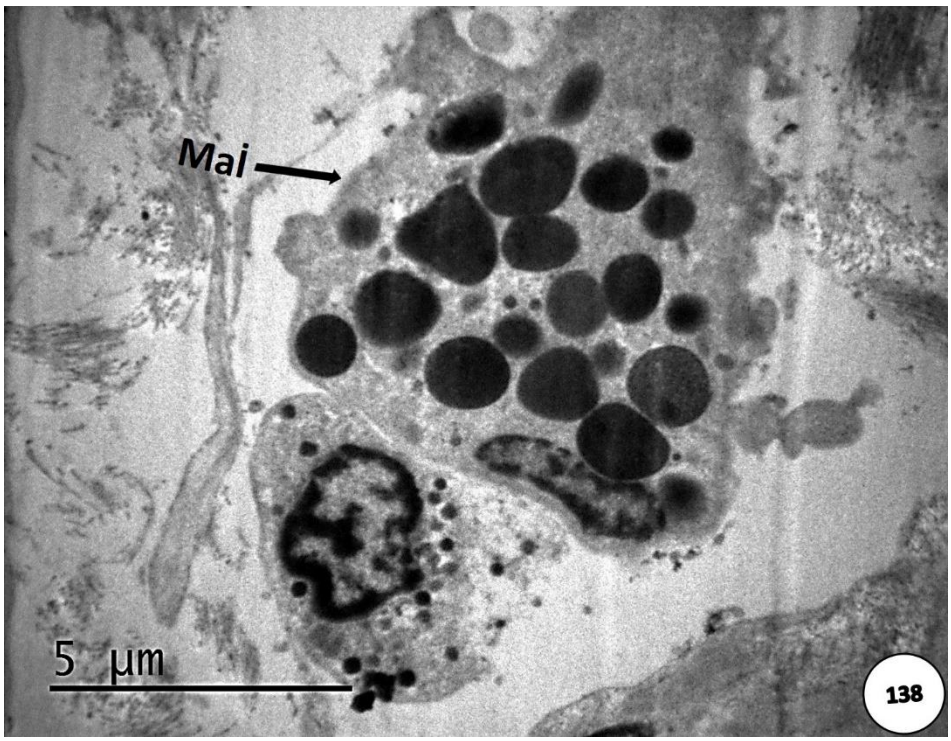
Şekil 4.135. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: testis dokusunda mast hücresi infiltrastonu (Maİ).



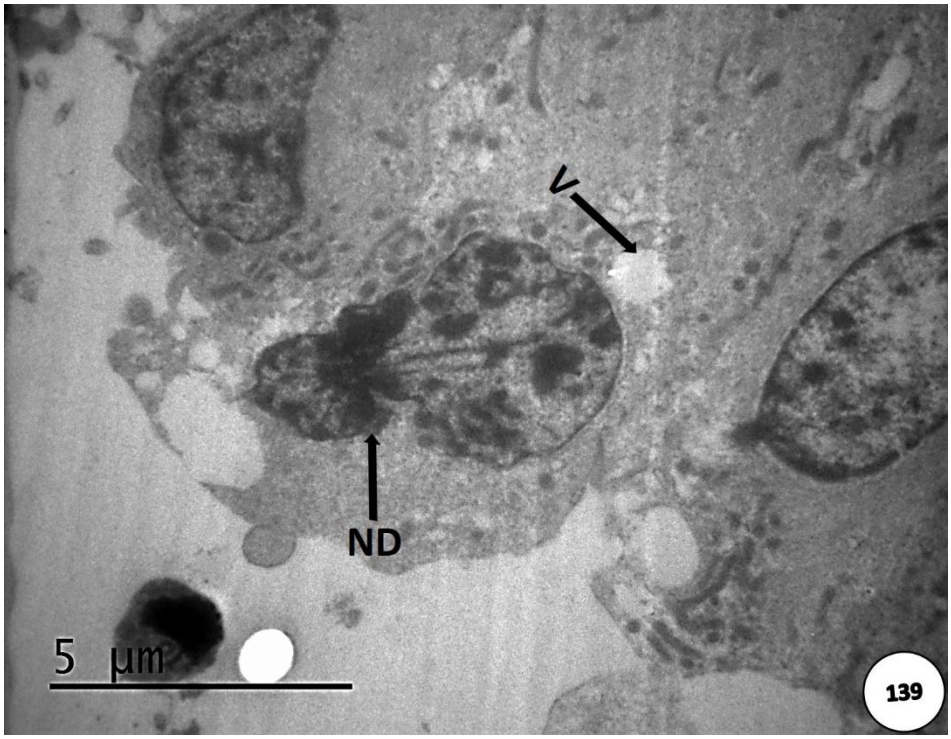
Şekil 4.136. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: spermatogonyumda mikrotübüler deformasyon (McD).



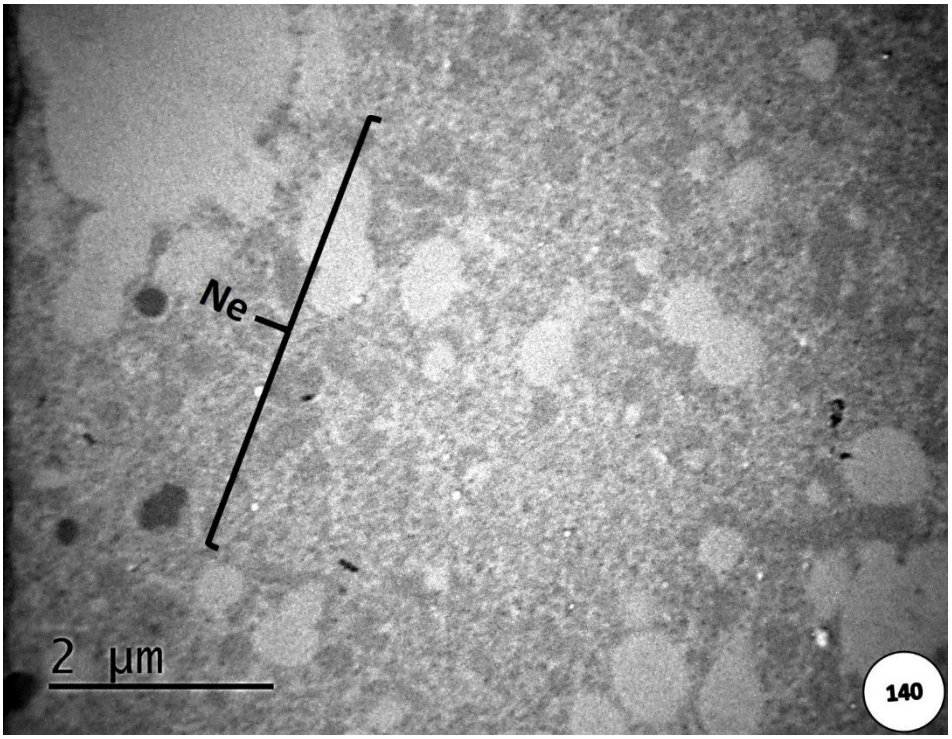
Şekil 4.137. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: nekroze bölge (Ne).



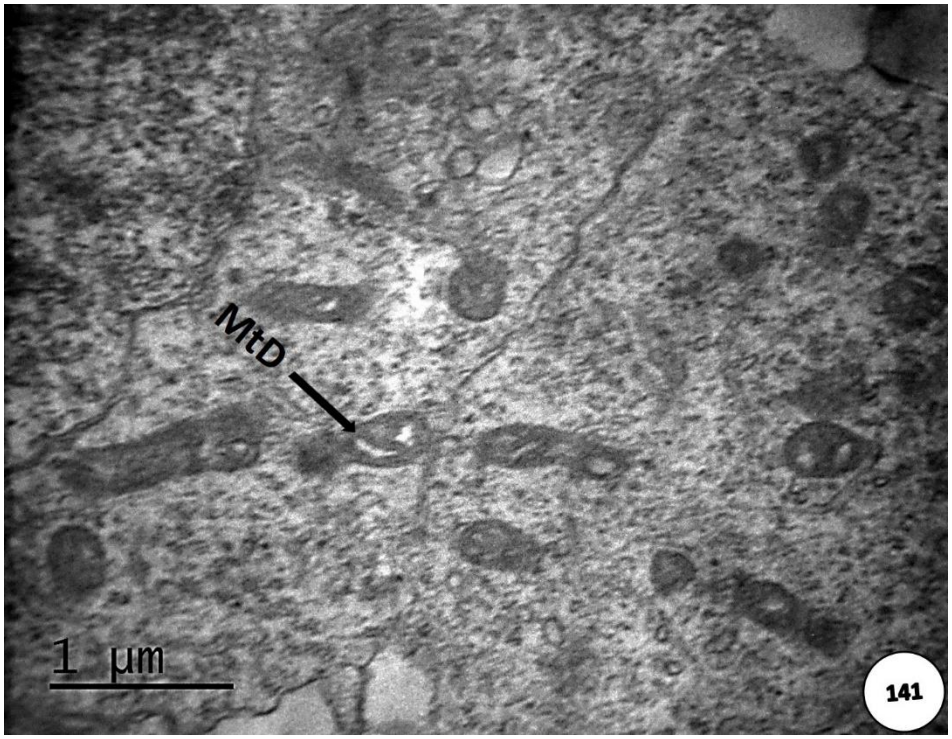
Şekil 4.138. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: mast hücresi infiltrasyonu (Maİ).



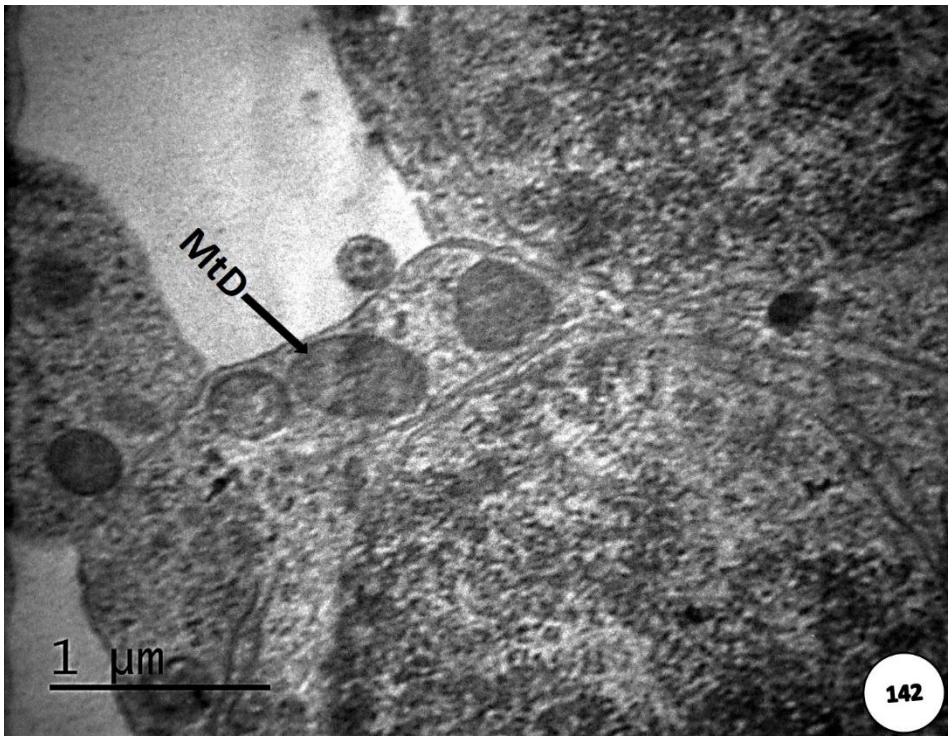
Şekil 4.139. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: spermatogonyumda vakuolizasyon (V), spermatogonyum çekirdeğinde morfolojik deformasyon (ND).



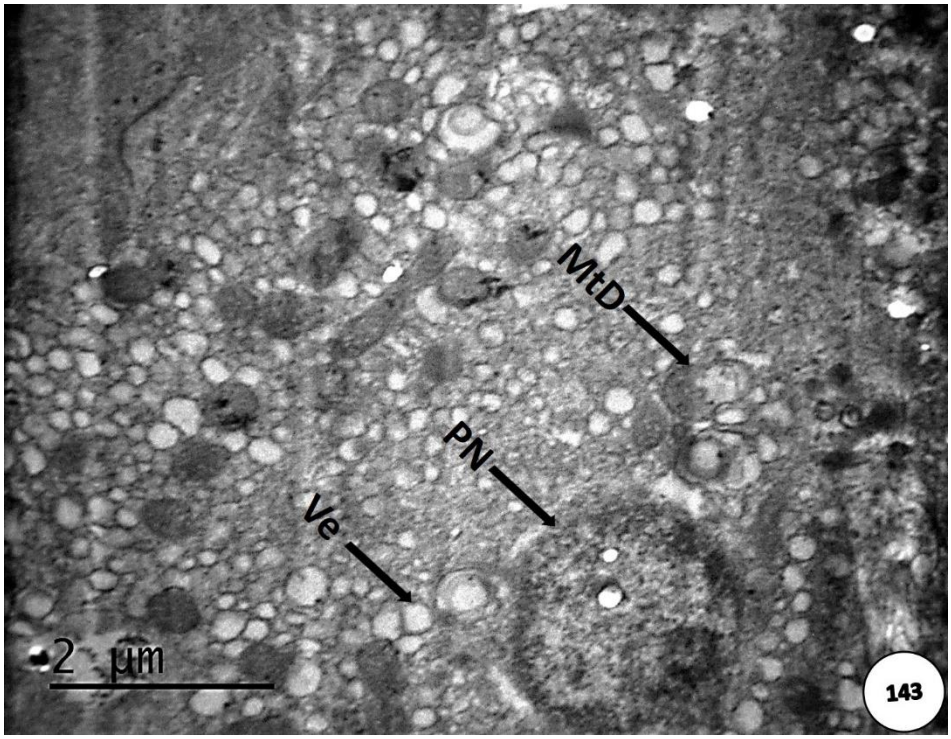
Şekil 4.140. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: nekroze bölge (Ne).



Şekil 4.141. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 7 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: mitokondrilerde krista deformasyonu (MtD).



Şekil 4.142. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 14 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: spermatogonyum mitokondrilerinde şişme (MtD).



Şekil 4.143. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: spermatogonyum mitokondrilerinde krista deformasyonu (MtD), nekrotik vezikülasyon (Ve), piknotik çekirdek (PN).

4.3. Ultrasütrüktürel [Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)] Bulgular

Taramalı elektron mikroskobu (Scanning Electron Microscope-SEM) balıklarda solungaçlar da dâhil olmak üzere birçok organın yüzey ultrasükrüktürünün ortaya çıkarılmasında önemli bir araçtır (Lewis, 1979, Dutta ve ark. 1997). Bu durum özellikle solungaçlar gibi solunum yapan organların yapısının incelenmesinde özellikle önemlidir çünkü bu organlarda gaz değişimi organın tüm yüzeyi vasıtasıyla gerçekleşir ve bu solunum etkinliğinin belirlenmesi bakımından yüzey morfolojisinin yapısının incelenmesi canlının sağlığı için önemlidir (Velmurugan 2011). Yüzey ultrasükrüktüründe meydana gelen patolojik değişiklikler ışık ve geçirimli elektron mikroskobu ile belirlenemediğinden dokuların ultrasüktürel yapısında meydana gelen böyle değişimlerin gözlenebilmesi için SEM kullanılması gerekmektedir (Dutta ve ark. 1997). Aynı zamanda SEM, balığın içinde bulunduğu sucul ekosistemin kimyasal doğası ve beslenme alışkanlığı ile bağlantılı olarak birçok solungaç ünitesinde meydana gelen modifikasyonlar hakkında daha ayrıntılı bilgi vermektedir (Munshi ve Singh 1992).

Morfometrik analizler, canlı yapılarında meydana gelen çevresel etkinin değerlenmesinde uygulanabilir. Çevresel kirleticilerin canlı organizmalarda meydana getirdiği yapısal-fonksiyonel etkileri şiddetli olabilir. Pestisitler gibi kirleticiler bu ilişkiyi bir arada tutan hasas dengeleri bozabilir. Bu bağlamda balık dokularında meydana gelen morfolojik değişiklikler, memeliler gibi daha yüksek organizmalar üzerinde bu tür kimyasalların etkilerinin anlaşılması için temel veriler sağlamaktadır (Munshi ve Dutta 1996). Bu yüzden elektron mikroskopları farklı kirleticilerin yol açtığı spesifik hasarların tanımlanmasında kullanılabilir ve kasıtlı yada kasıtsız olarak doğaya bırakılmış bir kirleticinin kimliğinin belirlenmesinde kimyasal analizlere önemli bir katkı sağlayabilirler (Daoust ve ark. 1984, Roncero ve ark. 1990, Kirk ve Lewis 1993).

SEM birçok örneğin incelenmesinde kiritik bir nitel tekniktir. Bu örneklerde ortaya çıkan özellikler, bilhassa solungacın sınırlı bir bölgesinde oluşan hasarlar için önemlidir. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) incelemesi solungaç yüzeyinde meydana gelen patolojik değişimlerin nedenlerinin belirlenmesinde kullanışlıdır ve TEM için tamamlayıcı nitelikte kullanılabilir (Alazemi ve ark. 1996).

Balıklarda solungaçlar, balık vücudunun tüm yüzey alnının yarısını oluşturmaktadır (Cengiz, 2006). Solungaç epiteli balığın iç çevresini dış çevreden ayıran ince bir tabaka olduğu için çevresel kirlenmelere karşı oldukça hassastır.

Teleost balıklar beş çift solungaç yayına sahiptir. Bu solungaç yayları solungaç filamentleri ve filamentlerin üzerinde yer alan sekonder lamellerden oluşmaktadır. Çok sayıda semisirküler sekonder solungaç lamelleri filamentlerin iki yanı boyunca dizilmektedirler. Solungaç lamellerinin yüzeyi basit tek katlı bir epitel tabakasıyla örtülüdür ve sekonder lamellerde bulunan kılcal damarlar yapıya desteklik sağlayan pillar hücreleri ile ayrılmıştır (Velmurugan 2011). Bu kılcal damarlarda kan yüzeye paralel olarak akmaktadır. Sekonder lamellerin bazı kısımlarında ve bazal epitelde yer yer mukus hücreleri yer almaktadır. Klorid hücreleri ise sekonder lamellerin tabanında bulunur. Bu hücreler solungaçlarda iyon değişiminin gerçekleşmesini sağlarlar (Laurent 1994). Balık solungaç epitelinin oldukça damarlı bir yapıya sahip olması sucul toksinler için bu bölgeyi hasas hale getirmiştir (Wong ve Wong 2000). Solungaç epitel hücrelerinde meydana gelen patolojik reaksiyonlar kirleticiler tarafından etkilenen metabolik süreçler ile ilgilidir (Schwaiger ve ark. 1997).

Balık solungaçları sadece gaz alışverişi, iyon değişimi ve asit baz dengesini sağlayan bir organ değil aynı zamanda nitrojenli atıkların salgılanmasını da sağlayan kompleks bir organdır. Bu karmaşık fonksiyonlarından dolayı solungaçlarda gaz alışverişi yapan hücreler, klorid hücreleri ve mukus hücreleri gibi çok çeşitli hücre yapıları bulunmaktadır. Bu hücrelerde meydana gelen patolojik reaksiyonlar, bir kirletici tarafından indüklenen spesifik bir metabolik süreci başlatabilir (Wendelaar Bonga ve Lock, 1992). Bu bağlamda, solungaçlar bir sucul çevrenin sağlığının belirlenmesinde önemli birer biyobelirteçtir.

Balık solungaçlarında bulunan en önemli hücrelerin başında pillar hücreleri gelmektedir. Bu hücreler modifiye olmuş endotelyal hücrelerdir ve bu hücreler sekonder lamellere desteklik sağlarken kanın içinden aktığı hemokoelik boşluklar oluştururlar (Wilson ve Laurent 2002). Balık solungaçlarında bulunan bir diğer önemli hücre solungaçlarda iyon alışverişi yapan klorid hücreleri ya da mitokondrice zengin hücrelerdir (MRCs). Bu hücreler sekonder lamellerin bazal kısmında bulunur ve mitokondri muhteviyatının çokluğu bakımından dikkat çeker. Solungaçlardaki mukus hücreleri

(Goblet hücreleri), büyük oval hücrelerdir ve yapısında bulunan çok miktarda elektron dense boyanmış mukus salgısıyla dikkat çeker.

Yaptığımız çalışma boyunca kontrol ve aseton kontrol gruplarındaki canlıların solungaç dokularında herhangi bir patolojik değişikliğe rastlanmamıştır (Şekil 4.144a ve 144b).

4.3.1. Carbaryl Grubunda (Grup III) Belirlenen Ultrasütrüktürel Değişimler

Yaptığımız çalışmada 850 µg/L Carbaryl'e 7 gün boyunca maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaç dokularının ultrasütrüktürel incelemesinde epitel ayrılması belirlenmiştir (Şekil 4.145).

14. günün sonunda epitellerde anevrizma ve baston şekilli sekonder lameller gözlenmiştir (Şekil 4.146).

21. günün sonunda sekonder lamellerde hiperplaziye bağlı füzyon ve pillar hücrelerinin çökmesine bağlı şekil değişikliği belirlenmiştir (Şekil 4.147).

4.3.2. Diazinon Grubunda (Grup IV) Belirlenen Ultrasütrüktürel Değişimler

280 µg/L Diazinon kosantrasyonuna maruz kalan canlıların 7. günde solungaç dokularında sekonder lamellerde epitel ayrılması ve pillar hücrelerinin çökmesine bağlı olarak meydana gelmiş şekil değişikliği gözlenmiştir (Şekil 4.148).

14. günde Diazinon'a maruz kalan canlıların solungaçlarında, sekonder lamel epitelinde hiperplazi tespit edilmiştir (Şekil 4.149).

21. günde sekonder lamellerde epitel ayrılması, hiperplazi, anevrizma gözlenmiştir (Şekil 4.150).

4.3.3. Lambda-cyhalothrin Grubunda (Grup V) Belirlenen Ultrasütrüktürel Değişimler

0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e 7 gün boyunca maruz kalan canlıların sekonder lamellerinde epitel ayrılması ve pillar hücrelerinin çökmesine bağlı olarak şekil bozukluğu gözlenmiştir (Şekil 4.151).

14. günün sonunda baston şekilli sekonder lamel ve lamellerde hiperplaziye bağlı füzyon görülmüştür (şekil 4.152).

21. günde epitel ayrılması ve füzyon şiddetlenmiştir (Şekil 4.153).

4.3.4. Atrazin Grubunda (Grup VI) Belirlenen Ultrasütrüktürel Değişimler

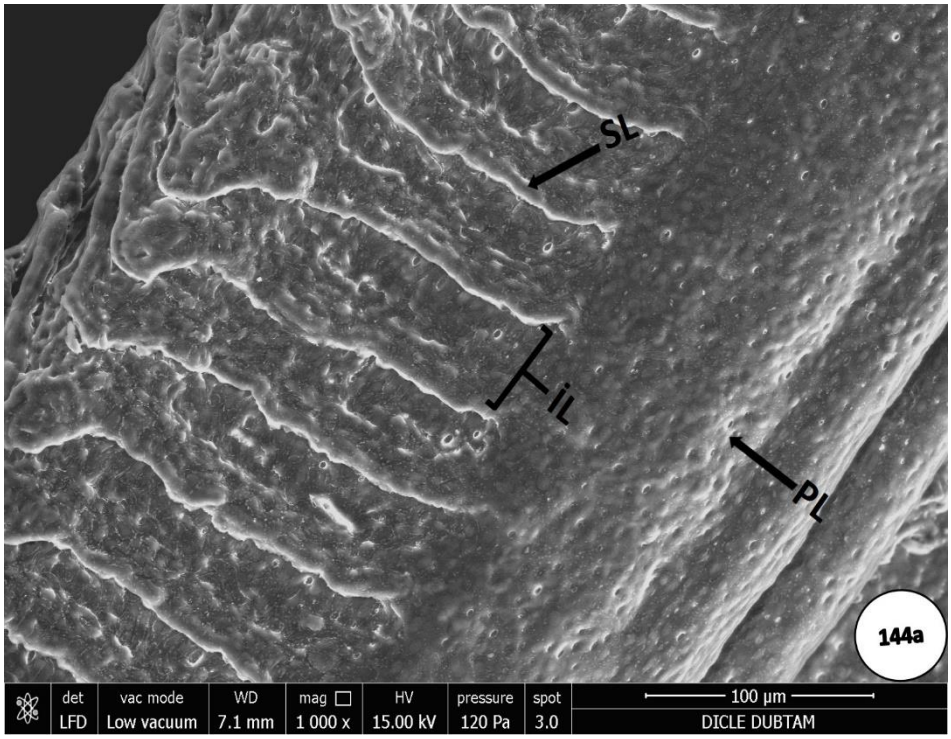
0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin 7. gün sonunda sekonder lamellerinde şekil bozukluğu görülmüştür (Şekil 4.154).

14. günde sekonder lamellerde hiperplazi ve buna bağlı olarak sekonder lamel füzyonu görülmüştür (Şekil 4.155).

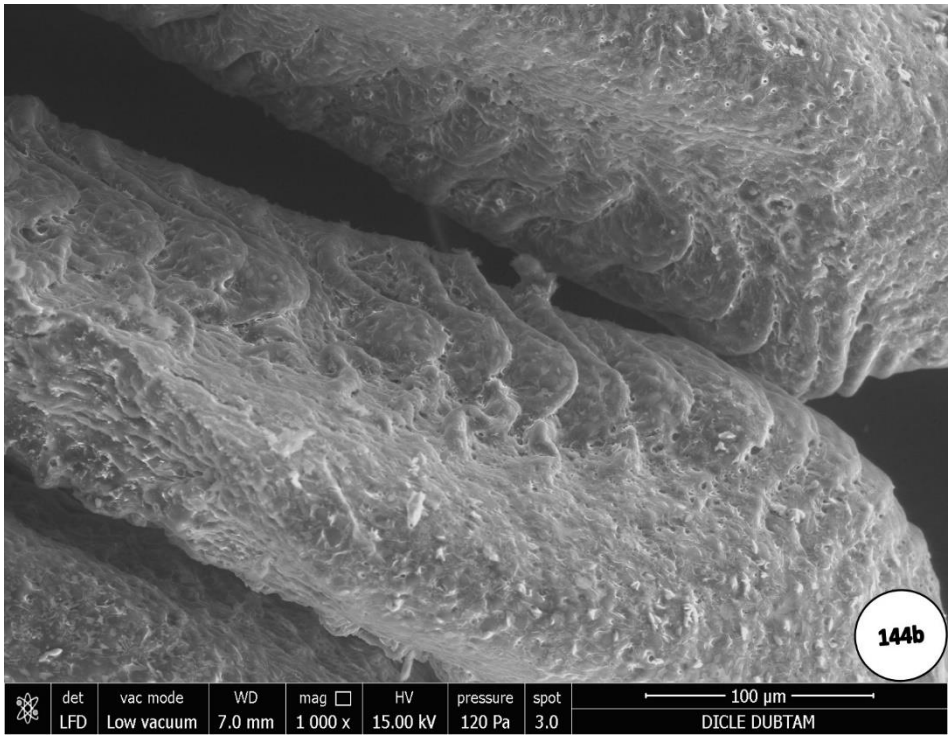
21. günde ise sekonder lamellerde pillar hücrelerinin çökmesine bağlı olarak meydana gelen şekil bozukluğu ve epitel ayrılması tespit edilmiştir (Şekil 4.156).

Solungaçlarda meydana gelen primer lezyonlar (epitel ayrılması, nekroz, klorid hücrelerinde hiperplazi…vb.) balıklar üzerinde yapılan birçok ksenobiyotik çalışmada gösterilmiştir (Smart 1976, Mallat 1985, Evans 1987). Wendelaa Bonga ve Lock (1992) solungaçlarda meydana gelen herhangi bir hasarın iyon dengesini bozduğunu ve geçici osmoregülatör yanıtları ortaya çıkardığını vurgulamıştır. Solungaç dokularında meydana gelen epitel ayrılmasının tipik bir imflamatuvar reaksiyon olduğu bildirilmiştir (Mallat 1985). Epitel ayrılaması su-kan difüzyon bariyerini genişleterek suda eriyen ksenobiyotiklerin geçişini zorlartırır (Morgan ve Tovell 1973).

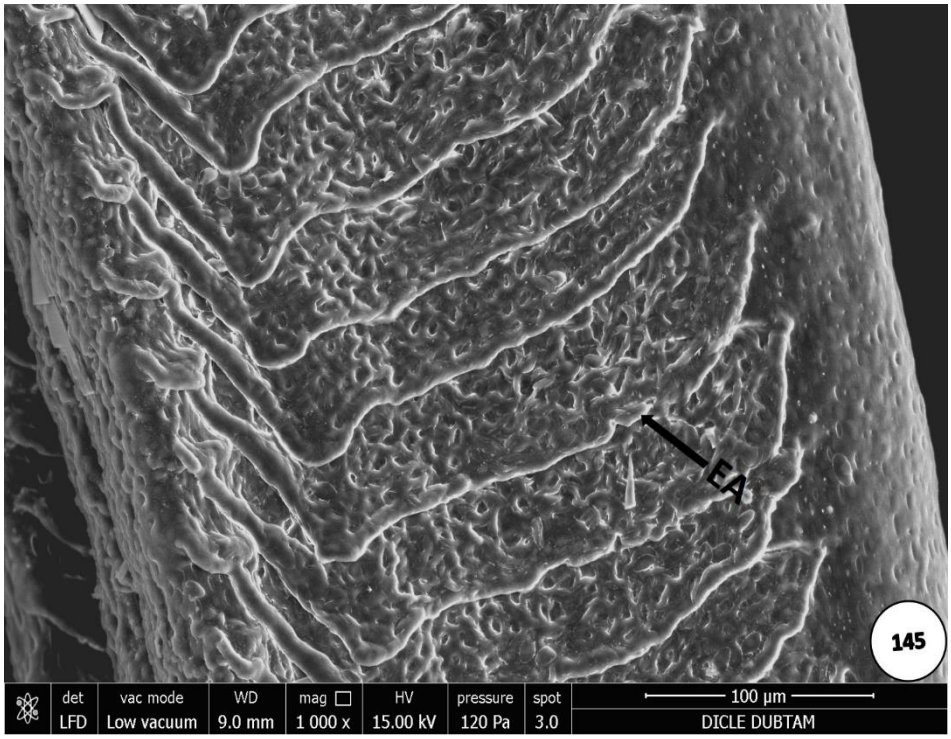
Yapılan bir çalışmada nehirdeki kirliliğe maruz kalan balıkların klorid hücreleri endoplazmik retikulumlarında, dilasyon ve vakuolleşme gözlenmiştir (Pawert ve ark. 1998). Bu değişimler detoksifikasyon sürecinin birer sonucudur. Genel olarak klorid hücreleri, balığın asit-baz ve iyon dengesinin korunmasını sağlar. Bu hücrelerin hasar görmesinin sonucu olarak balık metabolik asidozis ve alkalozisten ölebilir (Velmurugan 2011). Ayrıca klorid hücrelerinde meydana gelen hipertrofi balığın iyon solungaçlarda iyon transferinin bozulmasından dolayı böbrek dokusunda meydana gelen aşırı iyon kaybını tolere etmek için meydana gelebilir (Triedskorn ve ark. 2004). Mukus hücresi ve salgısındaki artış suda bulunan ksenobiyotiklerin alımını güçleştirmek için meydana gelmiş bir metabolik savunmadır (Velmurugan 2011).



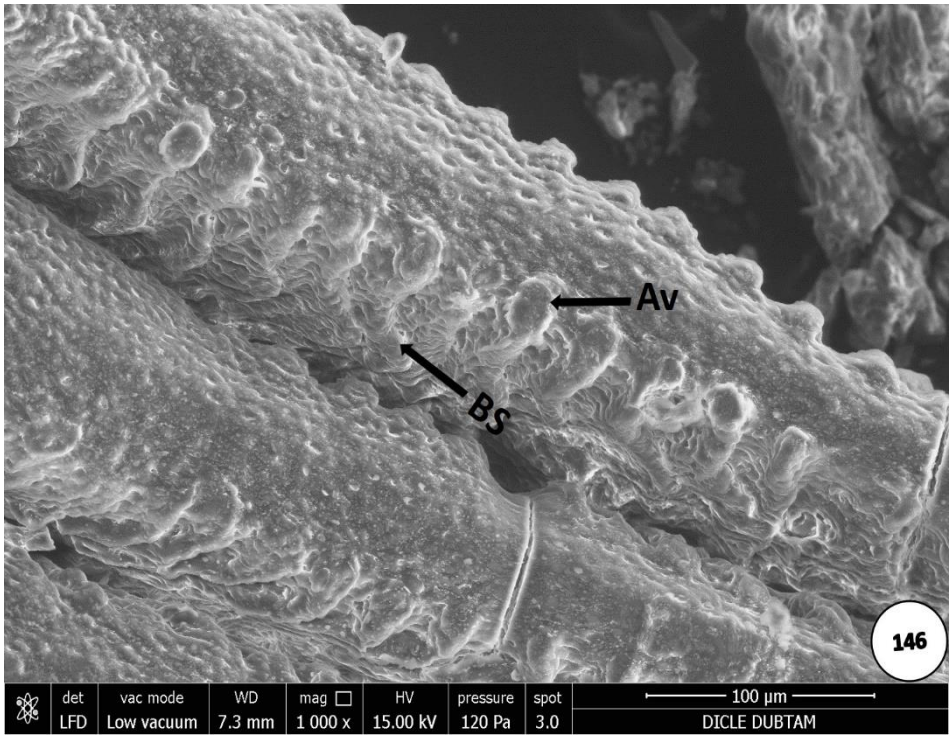
Şekil 4.144a. Kontrol (Grup I) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarının ultrasükrüktürel yapısı: Primer lamel (PL), sekonder lamel (SL), interlamellar boşluk (İL) (21. Gün).



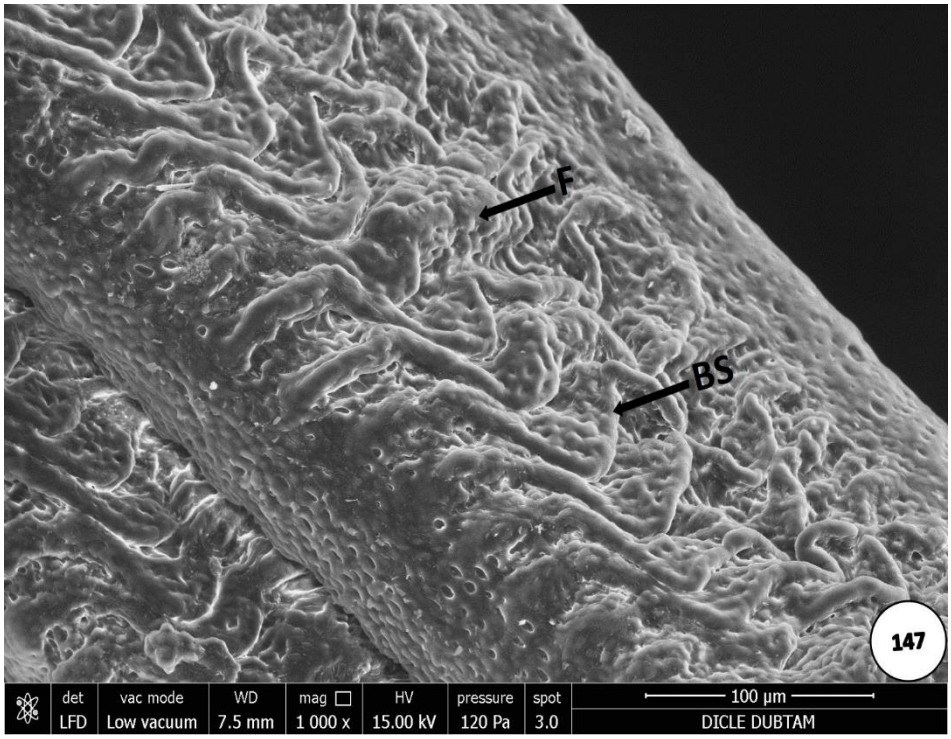
Şekil 4.144b. Aseton kontrol (Grup II) grubuna ait *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarının ultrasükrüktürel yapısı.



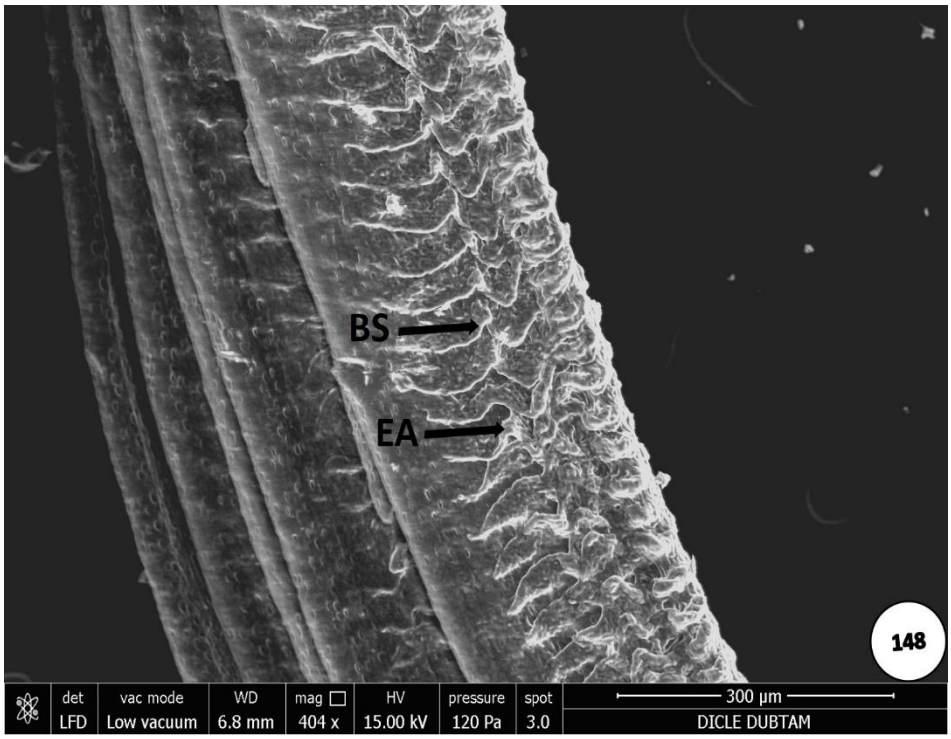
Şekil 4.145. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen ultrasükrüktürel değişiklikler: sekonder lamellerde epitel ayrılması (EA).



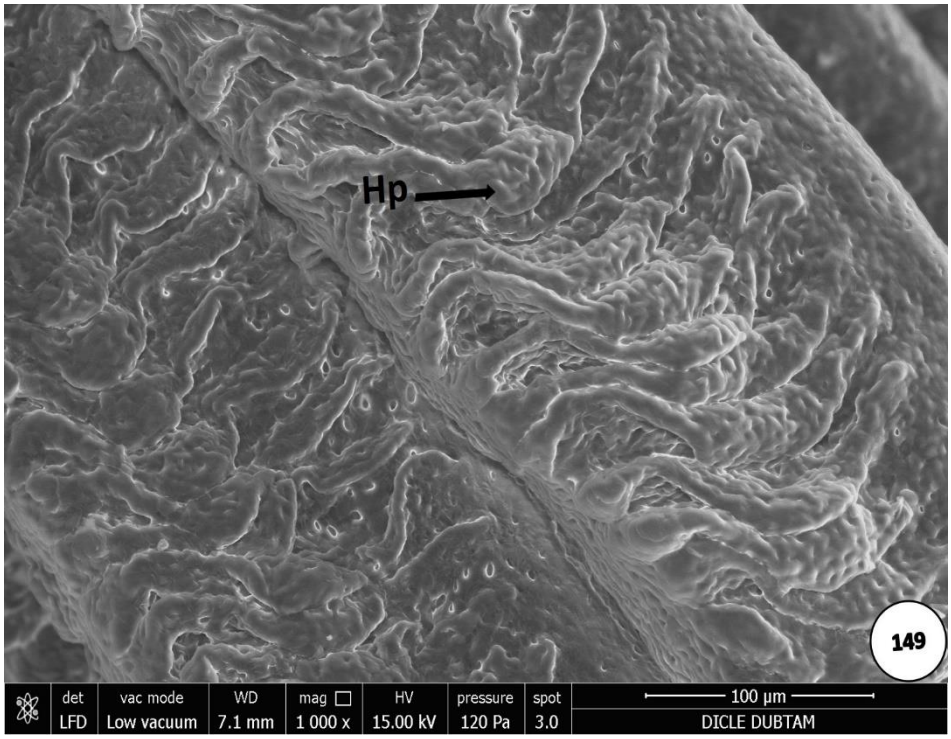
Şekil 4.146. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen ultrasükrüktürel değişiklikler: baston şekilli sekonder lamel (BS), sekonder lamellerde anevrizma (Av).



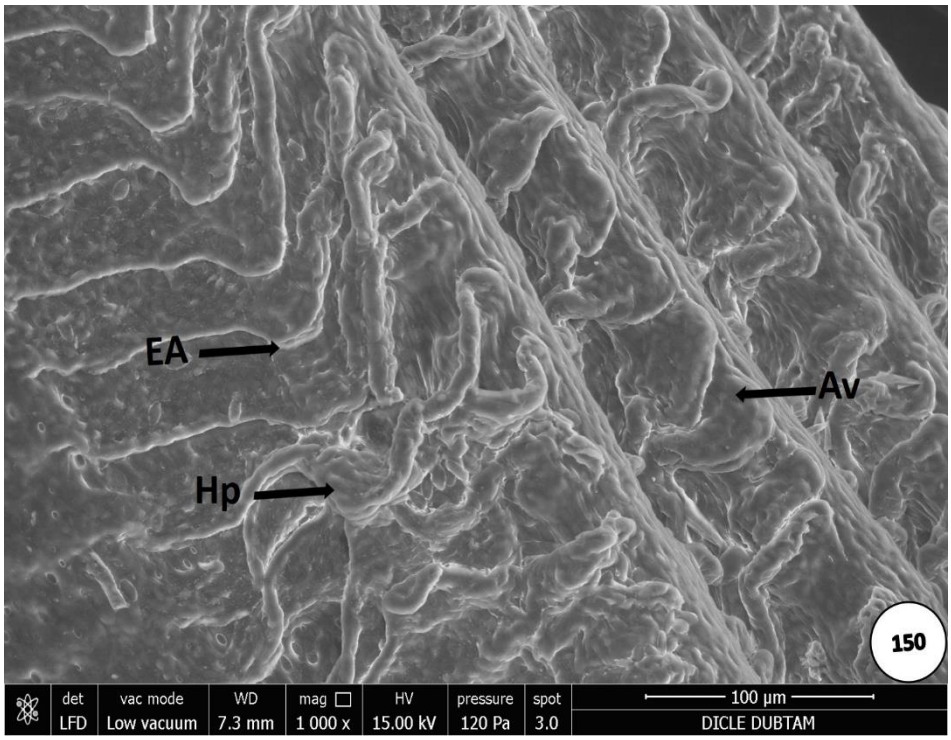
Şekil 4.147. 850 µg/L Carbaryl'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen ultrasükrüktürel değişiklikler: sekonder lamellerde füzyon (F), baston şekilli sekonder lamel (BS).



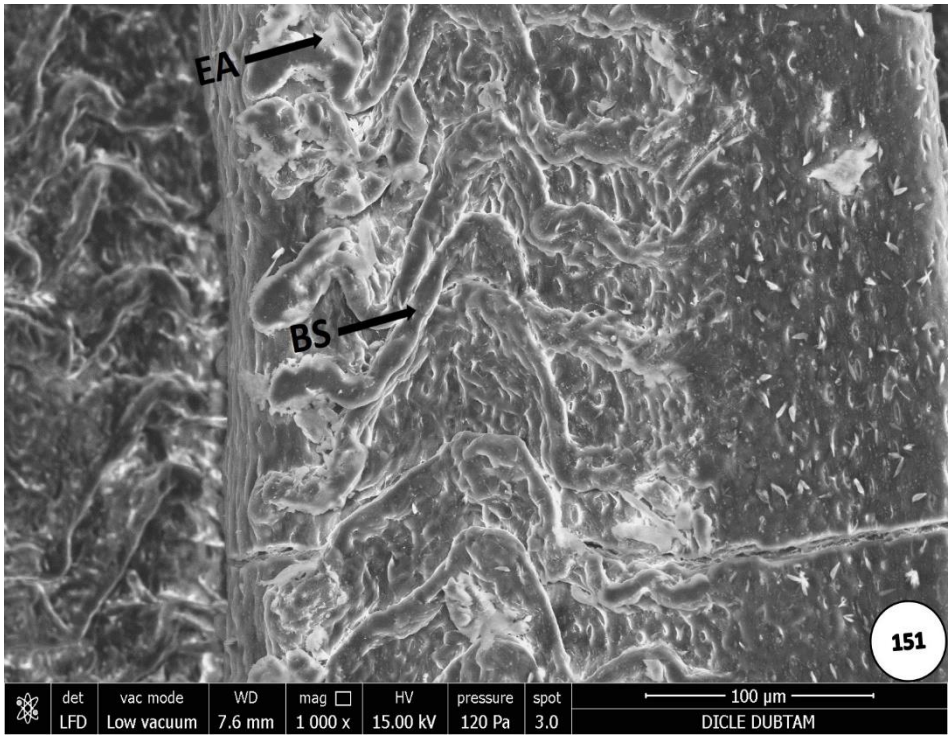
Şekil 4.148. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen uştrasükrüktürel değişiklikler: sekonder lamellerde epitel ayrılması (EA), baston şekilli sekonder lamel (BS).



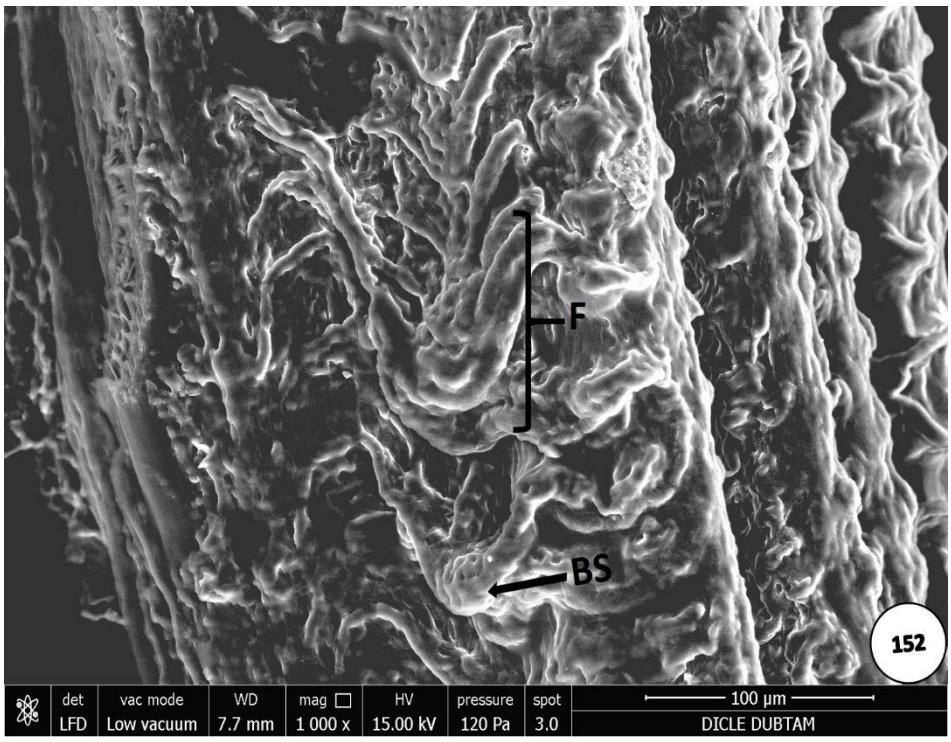
Şekil 4.149. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen ultrasükrüktürel değişiklikler: sekonder lamellerde epitel hiperplazisi (Hp).



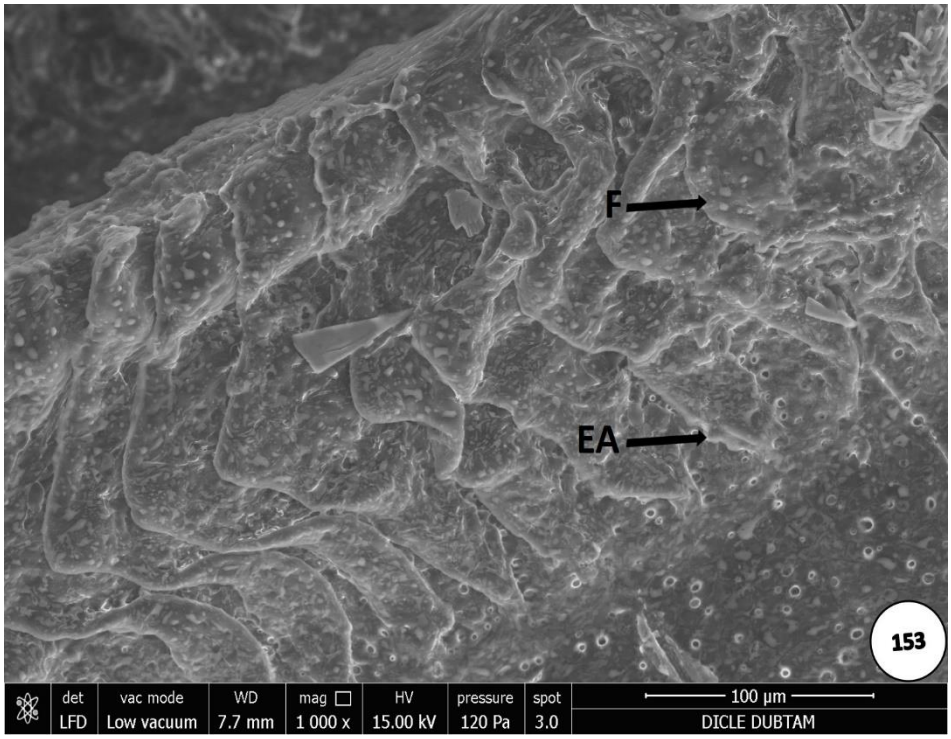
Şekil 4.150. 280 µg/L Diazinon'a maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen ultrasükrüktürel değişiklikler: sekonder lamellerde epitel ayrılması (EA), sekonder lamellerde epitel hiperplazisi (Hp), anevrizma (Av).



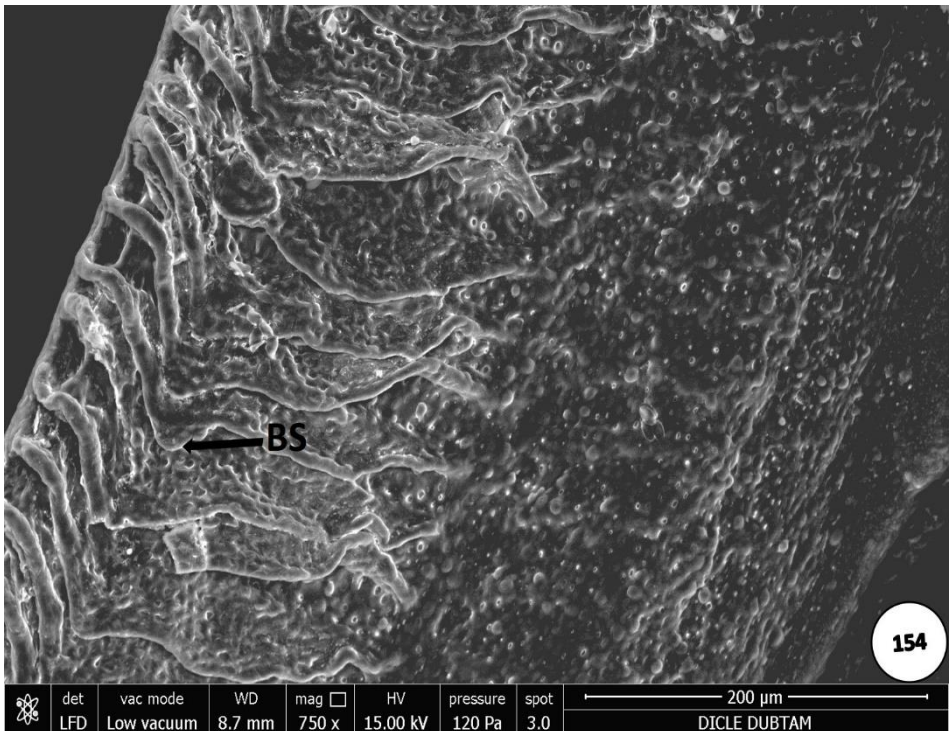
Şekil 4.151. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen ultrasütrüktürel değişiklikler: sekonder lamellerde epitel ayrılması (EA), baston şekilli sekonder lamel (BS).



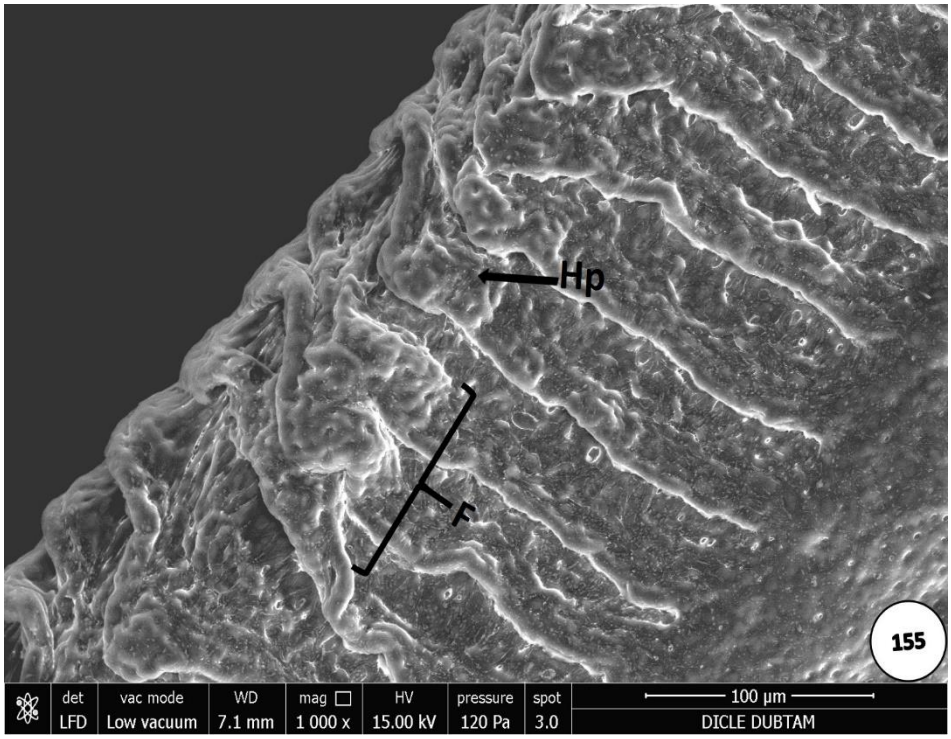
Şekil 4.152. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarda 14 gün sonunda meydana gelen ultrasükrğktğrel değişiklikler: sekonder lamellerde füzyon (F), baston şekilli sekonder lamel (BS).



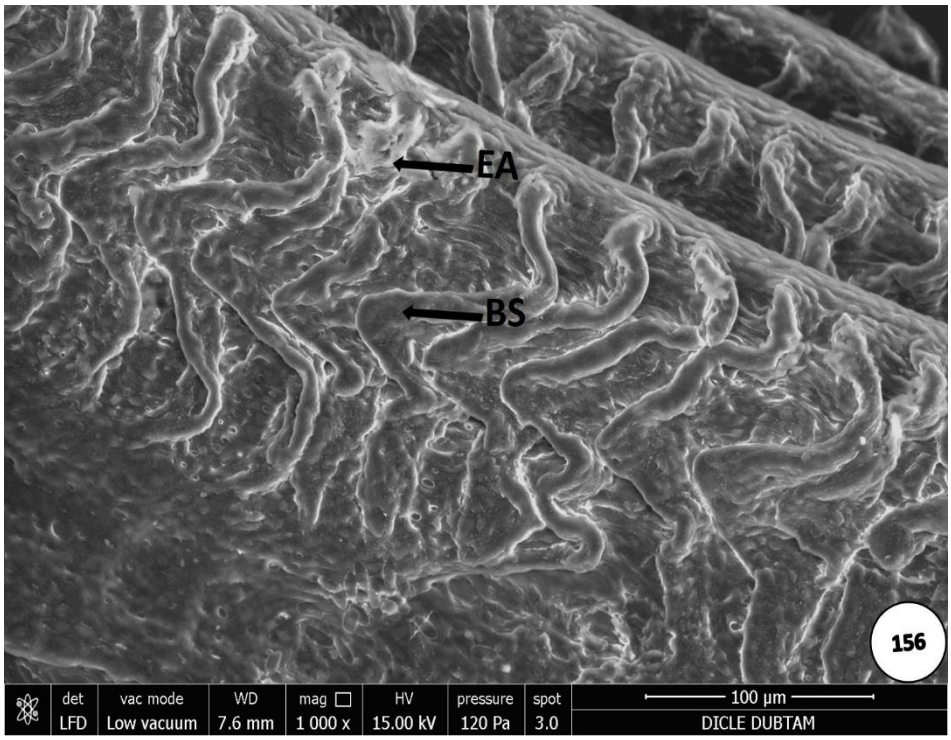
Şekil 4.153. 0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 21 gün sonunda meydana gelen ultrasükrüktürel değişiklikler: sekonder lamellerde epitel ayrılması (EA), sekonder lamellerde füzyon (F).



Şekil 4.154. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 7 gün sonunda meydana gelen ultrastruktürel değişiklikler: baston şekilli sekonder lamel (BS).



Şekil 4.155. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin solungaçlarında 14 gün sonunda meydana gelen ultrastrüktürel değişiklikler: hiperplazi (Hp), sekonder lamellerde füzyon (F).



Şekil 4.156. 0.935 mg/L Atrazin'e maruz bırakılan *O. niloticus* bireylerinin testislerinde 21 gün sonunda meydana gelen sitopatolojik değişiklikler: sekonder lamellerde epitel ayrılması (EA), baston şekilli sekonder (BS)lamel.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1. Histopatolojik Çalışma

Bir biyobelirteç olarak histopatolojinin avantajı biyolojik organizasyondaki önemli yerinden kaynaklanmaktadır (Adams ve ark. 1989). Histolojik değişiklikler subletal stresörlere karşı orta vadeli yanıtlar olarak ortaya çıkar ve histoloji, kirleticilerin birçok doku ve organdaki etkilerinin belirlenmesi için hızlı bir yöntemdir (Johnson ve ark. 1993). Balıkların çeşitli kirleticilere maruziyetleri bu canlıların birçok doku ve organında lezyonlara neden olabilir (Bucke ve ark. 1996). Solungaçlar, karaciğer, böbrek ve gonadlar kirlenmenin etkisinin belirlenmesi için histolojik incelemede oldukça uygun organlardır (Mallat 1985, Oronsaye 1989, ICES 1997). Bu organlar sucul kirlenme için primer belirteçler olarak kullanılmaktadır.

Solungaçlar geniş bir yüzey alanına sahiptir ve sudaki kirleticiler ile sürekli ve direkt temas halindedir. Ayrıca solungaçlar mukus hücrelerine sahiptir. Shephard (1994)'a göre mukus çok çeşitli fonksiyonlarının yanı sıra balıklarda toksik kimyasallara ve patojenlere karşı meydana gelen dirençte oldukça önemli bir role sahiptir. Karaciğer ise ksenobiyotiklerin uzaklaştırılmasında ve metabolizmasında önemli bir rol oynar. Balıklarda karaciğer bu fonksiyonlarından dolayı çevresel koşulların canlı üzerinde meydana getirdiği etkilerin belirlenmesinde önemli bir yere sahiptir (Jobling ve Sumpter 1993). Böbrekler ise balıklarda stabil bir iç dengenin sağlanması, salgılama ve kısmi olarak ksenobiyotiklerin metabolizmasında önemli görevler üstlenmektedir.

Neoplazmik ve pre-neoplazmik lezyonlar spesifiktir ve yapılan istatistiksel analizler, spesifik lezyonlar ile kirletici maruziyetlerinin arasında bağlantı olduğunu ortaya çıkarmıştır (Jonson ve ark. 1993, Myers ve ark. 1994, Vethaak 1994). Yapılan çalışmalarda kirlenmiş bölgelerde yaşayan genç balıkların, aynı bölgede yaşayan daha yaşlı ve neoplazmik olmayan lezyonları olan genç bireylerden daha az neoplazmik değişiklikler gösterdiği bildirilmiştir (Myers ve ark. 1992). Bu gibi neoplazmik olmayan lezyonlar incelediğinde, kirlenmenin ve lezyonların derecesi arasında muhtemel bir bağlantı bulunabilir.

Bernet ve ark. (1999)'nın yaptığı sınıflandırmaya göre çalışmamızda ilk dört reaksiyon paternine ait lezyonlar tespit edilmiştir. Balıklarda neoplazmik değişiklikler ile ilgili herhangi bir bulguya rastlanmamıştır. Bu durum belki pestisitler üzerine yapılacak

maruziyet süresinin daha uzun olduğu çalışmalarda bildirilebilir. Çünkü yaptığımız çalışmada da gözlemlediğimiz gibi maruziyet süresi arttıkça ortaya çıkan lezyonların şiddeti de bu duruma paralel olarak artmıştır. Bernet ve ark. (1999) tarafından neoplazmik değişiklikler, en şiddetli reaksiyonlar olarak belirtilmiştir. Bu bağlamda maruziyet süresinin, canlılarda meydana gelen kirleticiye bağlı histopatolojik değişimlerde oldukça önemli bir rol oynadığı görülmektedir.

Çalışmamızda solungaçlarda en sık rastladığımız histopatolojik değişiklik sekonder lamellerde meydana gelen epitel ayrılmasıdır. Epitel ayrılması genellikle kirletici maruziyetinin ilkin semptomu olarak düşünülmektedir. Bu bilgiye paralel olarak çalışmamızda bu histopatolojik bulguya pestisit maruziyetinin genellikle 7. ve 14. günlerinde rastlanmıştır. Buradaki amaç, difüzyon mesafesini artırmak ve böylece dokulara kirletici kimyasalların girişini zorlaştırmaktır. Benzer şekilde solungaçlarda meydana gelen epitel hücre proliferasyonuna bağlı hiperplazi ve sekonder lamellerin füzyonu da aynı şekilde kirletici kimyasalların dokuya infiltrasyonunu engellemek amacı ile gerçekleşen bir metabolik savunma yanıtıdır (Reddy ve Rawat 2013). Yaptığımız çalışmada tüm pestisit gruplarında hiperplazi ve sekonder lamellerin füzyonu tespit edilmiştir. Bu durum, bu iki histopatolojik değişikliğin pestisit maruziyet çalışmalarında uygun birer biyobelirteç olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Bernet ve ark. (1999)'a göre hiperplazi progresif bir değişiklik olarak sınıflandırılmaktadır (rp3). Bu bağlamda değerlendirdiğimizde solungaçlarda meydana gelen hiperplazi daha çok metabolik bir savunma yanıtı olarak düşünülmelidir. Çünkü epitel hücrelerinin proliferasyonu her ne kadar oksijen alımını arttırmaya yönelik gerçekleşmiş olsa da buradaki temel amaç difüzyon mesafesini arttırmaktır. Yapılan birçok çalışmada da bu bulgunun bir metabolik bir savunma tepkisi olduğu belirtilmiştir (Temmink ve ark. 1983, Wood 2001, Au 2004). Yine progresif bir değişiklik olarak sınıflandırılan hipertrofi, çalışmamızda sık rastladığımız bir diğer histopatolojik bulgudur. Bu değişiklik her ne kadar hücrelerin aşırı çalışması sonucu meydana gelen bir patoloji olarak değerlendirilse de nekroze hücrelerin şişmesinin bir sonucu olarak da düşünülebilir. Genellikle 21. günde solungaç dokularında gözlenen nekroze bölgeler bu çıkarımı doğrular niteliktedir. Nekroz, Bernet ve ark. (1999) tarafından, regresif bir değişiklik olarak kategorize edilmektedir. Bu durumda progresif değişimlerden sonra hücrelerde fonksiyon kaybına bağlı olarak regresif değişimlerin görüldüğü ve bu değişimlerin en şiddetli yanıtı olarak

dokularda nekrozun meydana geldiği sonucu çıkarılabilir. Aynı şekilde epitel hücrelerinde gözlenen hidrofik dejenerasyon ve piknotik çekirdek de nekrozun öncül göstergeleri olarak değerlendirilebilir.

Çalışmamızda solungaç dokularında mukus hücrelerinde hipertrofi ve aşırı mukus birikimine rastlanmıştır. Aşırı mukus salgısı ve mukus hücre proliferasyonu da metabolik bir savunma tepkisi olarak düşünülmektedir. Yaptığımız çalışma sonucunda solungaçlarda meydana gelen histopatolojik değişikliklerin genellikle dış ortamdan kirletici kimyasalların alımını güçleştirmeye yönelik metabolik savunma tepkileri olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda *O. niloticus* böbreklerinde en fazla rastlanılan histopatolojik bulgunun glomeruluslarda meydana gelen atrofi olduğu belirlenmiştir. Buna bağlı olarak Bowman kapsülü ve glomeruluslar arasında kalan boşlukta genişleme meydana gelmiştir. Atrofi regresif bir değişiklik olarak sınıflandırılmaktadır (Bernet ve ark. 1999). Böbreklerde meydana gelen fonksiyon kaybına dayalı böyle değişiklikler, canlıların hemostazisinde büyük sorunlar meydana getirebilir. Solungaçlarda olduğu gibi böbrek dokusunda da bütün pestisit gruplarında gözlenen patolojilerin şiddeti zamana bağlı olarak artmıştır. Ancak böbrek dokularında en dramatik ve şiddetli değişimleri lamda-cyhalothrin meydana getirmiştir. Bu durum solungaç, karaciğer ve gonad dokuları için de geçerlidir. Lambda cyhalaothrin pretroid bir insektisittir. Piretroidler güçlü bir insektisit özelliğine sahiptir ve kolay bir şekilde metabolize edilmelerinden dolayı çoğu hayvanda özellikle memelilerde oldukça kısa bir ömre sahiptir. Fakat balıklar için bu durum geçerli değildir. Çünkü balıklarda piretroidleri hidrolize eden enzim sistemleri yoktur (Haya 1989). Balıklarda sentetik piretroidler ne tam metabolize olurlar ne de çabucak toksisitelerini kaybederler. Bu nedenle balıklarda kalıntı ve birikimleri çok ciddi problemlere yol açar. Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgular bu verileri desteklemektedir. Tüm dokular incelendiğinde gerçekten de en kısa sürede en şiddetli histopatolojik değişimleri Lambda cyhalothrin'in meydana getirdiği görülmektedir. Yapılan birçok çalışmada böbreklerde meydana gelen histopatolojik değişimlerin toksik kimyasalların etkilerinin belirlenmesinde önemli birer biyobelirteç olduğu bildirilmiştir (Mandal ve Kulshrestha 1980, Norris ve ark. 1997). Çalışmamız bu bulguları desteklemektedir.

Balıklarda karaciğer toksik kirleticilerin depo edilmesi, biyotransformasyonu ve salgılanmasındaki temel organdır. Bu bağlamda karaciğerde meydana gelen histopatolojik değişimler ve buna bağlı olarak fonksiyon kaybı canlılar için önemli sonuçlar doğurabilir. Yaptığımız çalışma sonucunda balıkların karaciğerlerinde en sık rastladığımız histopatolojik bulgu hipertrofidir. Hipertrofi progresif bir değişiklik olarak sınıflandırılmıştır. Bu durum karaciğer için doğru olabilir, çünkü toksik kimyasalların metbolizasyonu sırasında aşırı miktarda çalışmak zorunda kalan hepatositlerde böyle bir değişimin olması kaçınılmazdır. Ancak pestisit maruziyet süresinin uzamasıyla karaciğer dokularında görülen nekroz, progresif değişimlerden sonra regresif değişimlerin meydana gelebileceğini tekrar göstermektedir. Çalışmamızda yağ akümülasyonuna bağlı hücresel dejenerasyona, en fazla karaciğer dokularında rastlanmıştır. Karaciğerde meydana gelen yağ dejenerasyonu toksik bileşiklere karşı meydana gelen en yaygın hücresel yanıt olarak bildirilmektedir (Timbrell 1991). Bu durum karaciğerin yağ metabolizmasında etkin bir şekilde rol almasından kaynaklanıyor olabilir. Bu durum aynı zamanda pestisitlerin yağ metabolizmasını hızlandırarak yağ oluşumunun artması sonucu meydana gelmiş olabilir. Bununla birlikte yağ metabolizmasından sorumlu proteinlerde meydana gelen bozulmalar da lipit dejenerasyonuna sebep olmuş olabilir. Bu durumun daha iyi anlaşılması için lipit metabolizasyonundan sorumlu enzimler ile ilgili gen ekspresyonu düzeyinde araştırmaların yapılması gerekmektedir.

Gonadlarda en sık rastlanan histopatolojik değişiklik spermatogonyumlarda meydana gelen hipertrofidir. Burada gözlenen hipertrofi, nekroze hücrelerin şişmesinin bir sonucu olarak değerlendirilebilir. Zaten maruziyet süresinin artmasıyla testis dokularında gözlenen piknotik çekirdekli spermatogonyumlar ve nekroz bu bulguyu desteklemektedir. Meydana gelen bu tür değişimler regresif olarak değerlendirilebilir. Spermatozoaların sayısında azalma ise sadece Carbaryl maruziyetinin 21. gününde görülmüştür. Yapılan bazı çalışmalarda Carbaryl'in üreme verimliliğini düşürdüğü rapor edilmiştir (Gosh ve ark. 1990). Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgular bu çalışmaları doğrular niteliktedir.

Çalışmamızda Carbaryl ve Diazinon maruziyetinde gözlenen Sertoli hücrelerinde piknozis özellikle üreme verimi açısından dramatik değişiklikler meydana getirebilir. Çünkü Sertoli hücreleri birçok canlıda olduğu gibi spermlerin gelişmesinde ve olgunlaşmasında önemli görevler üstlenmektedir. Sertoli hücreleri aynı zamanda

testislerde apoptozis sonucu oluşan kalıntıların temizlenmesinde fagositik fonksiyon gösterir (Gaikwad ve ark. 2016). Bu yüzden bu hücrelerde meydana gelen herhangi bir patolojik değişiklik canlılarda üreme veriminin düşmesi ve hatta kısırlık gibi sorunlara neden olabilir. Bu bağlamda balık gonadlarınn üzerinde daha ayrıntılı toksikolojik çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Çalışmamızda seminifer tübüllerinde hem atrofi hem de genişleme kaydedilmiştir. Carbaryl, Diazinon ve Atrazin maruziyeti sonucu seminifer tübüllerinde genişleme kaydedilirken, sadece Lambda cyhalotrin maruziyetinde tübüler atrofi gözlenmiştir. Tübüler atrofi, tübül hücrelerinde meydana gelen hipertrofi ya da hiperplazi kaynaklı olabilir. Seminifer tübülleri, fertilizasyon için özellikle önemlidir çünkü bu tübüler yapı hem olgunlaşmış spermleri barındırır hem de yumurtaların döllenmesi sırasında spermlerin salıverilmesini sağlar (Manjunatha ve Philip 2016). Bu bağlamda seminifer tübüllerinde meydana gelebilecek histopatolojik değişiklikler bu canlıların fertilizasyonunu etkileyebilir.

Balıklarda belirlenen histopatolojik semptomlar, bu canlılarda iç dengeyi ve hayati biyolojik faaliyetleri bozarak canlının bulunduğu ortama adaptasyon gücünü düşürebilir. Benzer olarak, canlının gamet sayısında ve embriyo kalitesinde azalma kaynaklı balıklarda meydana gelen üreme bozuklukları popülasyon üzerinde zararlı etkilere neden olmaktadır. Bu yüzden balıklar üzerinde yapılacak histopatolojik çalışmalar popülasyonda meydana gelecek bu etkilerin önceden belirlenmesi için oldukça önemlidir. Dahası, histopatolojik semptomlar balıkların ekolojik çevreleriyle oldukça ilgilidir. Bu histopatolojilerin yüzdelik patolojik insidansları, kirleticiler tarafından kontamine olan bölgelerden alınmış örnekler üzerinde belirlenebilir, böylece bu kirleticilerin popülasyon/komunite etkileri üzerine nicel tahminler yapılabilir.

5.2. Sitopatolojik [Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM)] Çalışma

Biyobelirteçler çevresel kirleticilerin etkisini ya da maruziyetini gösteren ve canlılarda meydana gelen suborganizmal yanıtların bir ölçümü olarak tanımlanmaktadır (Peakall 1992). Son yıllarda biyobelirteç bilimi önemli derecede gelişmiş (SETAC 1992) ve dünya genelinde, özellikle sucul canlılar ile ilgili, birçok kimyasal ve fizyolojik parametre tanımlanmıştır (ANZECC 1992). Canlılarda daha düşük biyolojik organizasyon seviyelerinde meydana gelen yanıtlar daha spesifik, hassas, üretilebilir ve

daha iyi tespit edilebilir olmasına rağmen bu yanıtların ekolojik değişiklikler ile ilişkilendirmek daha zordur (Au 2004). Diğer taraftan, yüksek biyolojik organizasyon seviyesinde meydana gelen yanıtlar (popülasyon ya da komünite yanıtları) direkt olarak ekosistemin sağlığını göstermektedir ve bu yüzden çevresel kirlenmenin belirlenmesinde daha uygun sonuçlar vermektedir. Ancak bu tür yanıtların belirlenmesi daha zordur, bu yanıtlar daha az spesifiktir ve daha geç, özellikle çevresel hasar meydana geldikten sonra, tespit edilebilir (Connell ve ark. 1999).

Sitolojik yanıtlar görece olarak daha kolay tespit edilebilir ve canlının sağlık durumu ile ilişkilidir ki daha sonra bu veri popülasyonun/komünitenin sağlının belirlenmesi için genellenebilir. Balıklarda meydana gelen birçok sitolojik değişiklik kirleticinin etkisini belirlenmesinde geliştirilip kullanılmaktadır. Amerika ve Avrupa'da yapılan birçok çalışmada balıklarda meydana gelen patoloji ile kirlenmenin derecesi arasında belirgin bir ilişki olduğu keşfedilmiştir (Au 2004). Bu çalışmalarda balıklarda meydana gelen hastalıklar ve sitopatolojik değişiklikler kirletici maruziyetinin birincil göstergeleri olarak belirtilmiş ve bu tür değişimlerin kirletici maruziyeti sonucu meydana gelen toksik/karsinogenik etkilerin biyolojik göstergeleri olduğu kanıtlanmıştır. Yakın zamanda Akdeniz'de yapılan biyo-izleme çalışmalarında yumuşakça ve balıklarda meydana gelen hücresel yanıtların kirleticilerin etkisinin belirlenmesinde sitolojik biyobelirteç olarak kullanılması tavsiye edilmiştir (Au 2004).

Balık dokularında meydana gelen sitopatolojik değişimler ile ilgili literatürde çok az çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar daha çok kirletici maruziyeti sonucu oluşan sitopatolojilerin belirlenmesine yöneliktir ve maalesef bu konuda herhangi bir sınıflandırma bulunmamaktadır. Ancak Au (2004) yaptığı bir çalışmada balıklar ve yumuşakçalarda kirletici maruziyeti sonucu ortaya çıkan üç patoloji tanımlamış ve bunları kısmen de olsa sınıflandırmıştır. Au (2004), kirletici maruziyeti sonucunda balıkların ve yumuşakçaların hücrelerinde lizozom bütünlüğünde bozulma, lipopigment içeriğinde artma ve peroksizom proliferasyonu olarak üç temel değişimin meydana geldiğini bildirmiştir.

Lizozomlar membran kökenli organallerdir ve içlerinde dışardan alınan maddeleri ya da hücrenin kendisini hidrolize eden enzimler barındırırlar. Balık dokularında lizozomlarda, kirletici maruziyeti sonucu meydana gelen genişleme birçok çalışmada

gösterilmiştir (Lowe ve ark. 1981, Nott ve Moore 1987, Regoli ve ark. 1998). Aynı çalışmalarda lizozom genişlemesinin yanında lizozom sayısında artış da rapor edilmiştir. Yapılan bu çalışmalarda lizozomlarda meydana gelen bu tür değişimlerin önemli birer biyobelirteç olduğu bildirilmiştir. Ek olarak lizozomal membran destabilzasyonu ve buna paralel olarak lizozomal genişleme, balık karaciğerinde toksik kirletici maruziyet sonucu oluşan fonksiyonel kayıpların belirlenmesi için kullanılması önerilmektedir (Broeg ve ark. 2002, Köhler ve ark. 2002).

Çalışmamızda özellikle karaciğer dokusunda lizozomal dejenerasyon kaydedilmiştir. Uygulanan tüm pestisitler balıkların karaciğerinde lizozomal dejenerasyon meydana getirmiştir. Solungaç ve böbrek dokularında da lizozomal değişimler belirlenmiş olmasına rağmen bu patolojiye en sık rastladığımız organ karaciğerdir. Bu bağlamda lizozomal dejenerasyon, özellikle balıkların karaciğerlerinde kirletici maruziyetinin etkisinin belirlenmesi bakımından kullanışlıdır. Lizozom organelinde meydana gelen yapısal ve sayısal değişiklikler balıklarda kirletici maruziyeti sonucu oluşan etkilerin ve canlının üreme durumunu gösteren basit ve maaliyeti az indikatörler olarak değerlendirilmektedir (Au 2004). Yapılan çalışmalarda özellikle balıkların sindirim sistemi hücreleri kirletici maruziyeti bakımından değerlendirildiğinde, bu hücrelerde lizozomal patolojiler kaydedilmiştir (Marigomez ve ark. 1996). Araştırmacılar bu değişimlerin, canlıların kirletici açısından sağlık durumunu ve üreme kapasitesinin verimini gösterdiğini bildirmişler ve bunun popülasyon üzerinde bir etki yaratacağını rapor etmişleridir. Bu yüzden hücrelerde meydana gelen lizozomal değişimler canlının ve hatta popülasyonun sağlığı hakkında bize erken ve güvenilir bilgiler vermektedir ve bu gibi durumlarda kullanılması oldukça uygundur.

Au (2004) tarafından bildirilen bir diğer sitopatolojik değişiklik lipopigment içeriğinde artmadır. Lipopigmentler (lipofuskin ve seroid) poliansature yağ asitlerinin serbest radikaller ya da reaktif oksijen tarafından bozulması sırasında ortaya çıkan lipit pereoksidasyonunun en son ürünleri olarak tanımlanmaktadırlar (Dayan ve Wolman 1993, Yin 1996). Memeli hücrelerinde lipopigmentlerin birikimi, seroid lipofuskinoz (Batten's Hastalığı) olarak bilinen bir patolojik semptomdur. Bu hastalığın memelilerde meydana getirdiği etkiler arasında körlük, nöbetler, demans ve prematüre ölümler yer almaktadır. Lipopigmentlerin birikimi kirleticilere maruz kalmış balıklarda ve deniz yumuşakçalarında da bildirilmiştir (Biagianti-Risbourg ve Bastide 1995, Köhler ve ark.

2002). Bu çalışmalara benzer olarak yaptığımız çalışmada da pestisit uygulanan balıkların özellikle karaciğerlerinde lipopigment birikimine rastlanmıştır. Karaciğerde Diazinon ve Carbaryl maruziyetinin 7. gününde lipopigment birikimi gözlenmişken, Atrazin'e ve Lambda cyhalothrin maruziyetinde bu sitopatolojiye rastlanmamıştır. Diğer dokularda ise sadece böbreklerde Atrazin maruziyetinin 7. gününde bu patolojiye rastlanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, bu sitopatolojinin kirletici maruziyetinin erken dönemlerinde ortaya çıktığı gözlenmektedir. Birçok kimyasalın metabolizasyon merkezi olan karaciğerde ise bu patolojinin sıklığının daha fazla olması şaşırtıcı değildir. Bu durum karaciğerde yağ metabolizasyonunun bozulduğunun göstergesi olarak düşünülebilir. Yapılan çalışmalar da göz önüne alındığında balıkların hücrelerinde meydana gelen lipopigment birikimi, kirletici maruziyetine karşı oluşan hassas bir hücresel yanıttır ve kirleticiler için iyi bir biyobelirteç olarak kullanılabilir. Ancak bu tür değişimler için, özellikle lipopigment birikiminin değerlendirilmesi için, standart bir protokol bulunmamaktadır. Bu hassas sitopatolojik yanıtın bir biyobelirteç olarak kullanılması için daha uygun ve ucuz protokoller geliştirilmelidir. Ayrıca bu patolojinin moleküler boyutunun ve özellikle gen ekspresyonu basamaklarında meydana gelen patolojik değişikliklerin aydınlatılması gerekmektedir.

Peroksizom sayısında ve büyüklüğünde artma, Au (2004) tarafından bildirilen bir diğer sitopatolojik bulgudur. Peroksizomlar bütün ökaryot hücrelerde bulunan membranlı organellerdir. Bu organel yağ metabolizması ve hücresel solunumda H_2O_2 metabolizasyonu gibi önemli görevleri gerçekleştirmektedir. Bazı ksenobiyotiklere maruz kalmış canlılarda bu organelin sayısında meydana gelen büyük artışlar rapor edilmiştir (Gibson ve Lake 1994, Moody 1994, Fahimi ve Cajaraville 1995). Peroksizom proliferasyonu, peroksizomların yapısında bulunan enzimler indüklenmeden, hem sayısal hem de hacimsel artışlarını ifade etmektedir. Yapılan birçok çalışmada kirleticilere maruz kalan yumuşakça ve balıkların sindirim kanallarında ve karaciğerlerinde peroksizom proliferasyonu bildirilmiştir (Porte ve ark. 1998, Orbea ve ark. 1999, Orbea ve Cajaraville 2001). Yaptığımız çalışmada bu bulguya rastlamamış olmamıza rağmen bu bulgunun yine de birçok çalışmada bir biyobelirteç olarak kullanılmasının uygun olduğunu düşünüyoruz. Yalnız özellikle balıklarda peroksizom proliferasyonu incelenirken tür temelli varyasyonlar ve toksik madde özgünlüğü gibi faktörler göz önünde bulundurulmalıdır. Sitopatolojik olarak peroksizomların tanımlanması zor değildir ancak

bu organellerin sayılması ve büyüklüğünün ölçülmesi çok zaman alıcı olabilir. Ancak özellikle bu organellerin hacmini ölçmek için daha önce Cajaraville (1997) tarafından önerilen stereolojik analiz kullanılabilir.

Pratik ve rutin izleme çalışmalarında kullanışlı olması için, seçilen biyobelirteçler ekolojik olarak uygun olmalı böylece meydana gelen çevresel değişiklikler ile ilgili tahminler yapılabilmeli. Ayrıca bu biyobelirteçler çevresel realistik konsantrasyonlar için hassas olmalı ve tercihen kirletici seviyeleri için iyi bir doz-yanıt ilişkisi sergilemelidir. Meydana gelen yanıtlar ise spesifik olmalı ve karışık birçok faktörden etkilenmemelidir. Bu biyobelirteç için yapılan örneklendirme ve analiz basit olmalı ve teknik açıdan çok karışık olmamalıdır. Au (2004) tarafından önerilen bu patolojiler balıklarda meydana gelen sitopatolojik değişikliklerin sınıflandırılması için oldukça yol gösterici ve aydınlatıcıdır. Ancak bu önermede sadece üç patolojik değişikliğin betimlenmesi sitopatoloji açısından kısıtlayıcı bir nitelik taşımaktadır. Çünkü yapılan birçok çalışmada kirletici maaruziyeti sonucu hücrelerde daha fazla sitopatolojik değişikliğin meydana geldiği gösterilmiştir. Bu değişikliklerin de belirlenip sitopatoloji için belirli bir kriter ve sınıflandırma prosedürü oluşturulmalıdır.

Yaptığımız çalışmada özellikle solungaçlarda rastladığımız en önemli sitopatolojik değişiklik çekirdek bleblenmesidir. Bu sitopatolojik bulgu Carbaryl maaruziyetinin 7. ve 21. günlerinde karşımıza çıkarken Lambda-cyhalothrin maaruziyetinin 14. ve 21. günlerinde belirlenmiştir. Hücre çekirdeklerinde gözlenen blebler apoptoz kaynaklı olabileceği gibi hipoksiya, metabolik zehirlenmeler ya da serbest radikallerin aşırı birikmesi gibi daha zararlı uyaranlar sonucu da meydana gelebilir (Jewell ve ark. 1982). Çalışmamızda gözlemlediğimiz blebler ise hipoksiya sonucu meydana gelmiş olabilir. Histopatolojik bulgulara baktığımızda solungaç dokularında gözlenen hipertrofi ve buna bağlı olarak meydana gelen sekonder lamellerdeki füzyon, canlının oksijen alımını azaltmış ve solungaç doku hücrelerinde böyle bir sitopatolojiye yol açmış olabilir. Bu çıkarımı yaparken solungaç dokusunun sürekli yenilenen aktif bir doku olduğu da göz önünde bulundurulmalıdır. Bu durumda solungaç dokusunda apoptotik bleblere sık rastlamak da olasıdır. Ancak solungaç dokularından elde edilen histopatolojik bulgular (nekroz ve mast hücresi infiltrasyonu) çekirdek bleblenmesinin apoptozis kaynaklı olmayabileceği hipotezini güçlendirmektedir. Hipoksiyanın yanısıra bu bulguya oksidatif stres de neden olmuş

olabilir. Bu sitopatolojinin sebeplerinin daha iyi anlaşılması için biyokimyasal ve moleküler çalışmaları içeren ileri analizler yapılmalıdır.

5.3. Ultrasütrüktürel [Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)] Çalışma

Solungaçların genellikle su kalitesinin belirlenmesinde iyi birer indikatör olduğu düşünülmektedir (Rankin ve ark. 1982). Solungaçlar hayati fonksiyonları yerine getirdiği ve dış ortam ile kontak halinde geniş bir yüzey alanına sahip olduğu için sucul çevrede meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişikliklere karşı oldukça hassastırlar ve özellikle balıklarda birçok su kaynaklı kirleticinin hedef organıdır (Mallat 1985). Bu bağlamda SEM, çevresel stresörlerin balık organlarının yapısında meydana getirdiği etkilerin belirlenmesinde oldukça kullanışlı ve etkili bir araçtır (Palaniappan ve ark. 2008). Buna ek olarak SEM; ışık mikroskobu ve TEM ile görüntülenemeyen branşiyal epitelun ultra yapısında meydana gelen hasarların belirlenmesinde oldukça kullanışlıdır.

Solungaçlar balıklarda solunumun ana merkezidir. Genel olarak balık solungaçları balığın iç ortamını dış ortamdan ayıran ince bir tek katlı epitel katmanına sahiptir ve balıkların yüzey alanının yarısından fazlasını oluşturmaktadır. Solungaçlar ortam ile yakın bir temasa sahiptir ki bu durum solungaçları sucul kirleticilere karşı hassas bir hale getirmektedir. Sucul kirleticiler direkt olarak solungaçların morfolojisini etkiler ve bu maruziyet, sonuç olarak tüm organizmaya zarar verir (Wong ve ark. 1982). Bu bağlamda çalışmamızın bu basamağında solungaçları tercih ettik.

Solungaçlar toksik kimyasallara karşı iki çeşit reaksiyon gösterirler. İlk reaksiyonlar olarak nekroz ve bozukluklar, kirleticilerin direkt zararlı etkileri olarak değerlendirilmektedir (Temmink ve ark. 1983). Bu etkiler kirleticinin dozu ile ilgilidir ve hücrelerin kendi hücre enzimleri tarafından indüklenen otoliz ve toksik kimyasalın indüklemesinden kaynaklanan lizis gibi iki mekanizma tarafından meydana gelir. İkinci reaksiyonlar ise epitel ayrılması, füzyon, hipertrofi, hiperplazi, mukus salgısında artış, mukus ve klorid hücre proliferasyonu gibi savunma mekanizmalarını içermektedir. Anevrizma oluşumu ise pillar hücrelerinin nekrozu sonucu kirleticilere karşı oluşan güçlü bir reaksiyon olarak tanımlanmaktadır (Mallat 1985).

Yaptığımız çalışmada yukarıda bahsi geçen patolojilerin birçoğuna rastlanmıştır. Çalışma boyunca ultrastrüktürel olarak en sık rastladığımız patoloji sekonder lamellerde

epitel ayrılması ve pillar hücrelerinin çökmesine bağlı olarak baston şekilli sekonder lameller olmuştur. Daha önce de bahsettiğimiz gibi sekonder lamellerde epitel ayrılması bir savunma tepkisidir. Baston şekilli sekonder lamel ise pillar hücrelerinin nekrozuna bağlı olarak sekonder lamellerde şekil bozukluğuna yol açmaktadır. Bu patolojilerin karakteristiği solungaçlarda meydana morfolojik değişimler olduğu için SEM ile daha iyi ortaya konmaktadır.

6. KAYNAKLAR

Adams, S.M., Shepard, K.L., Greeley, M.S., Jr, Jimenez, B.D., Ryon, M.G., Shugart, L.R., McCarhy, J.F. 1989. The use of bioindicators for assessing the effects of pollutant stress on fish. ***Marine Environmental Reseach***, 28: 459-464.

Agius, C., 1985. The melano-macrophage centres of fish: a review. Editörler: Manning, M.J., Tatner, M.F. Fish Immunology. 85–105. Academic Press, Londra, İngiltere.

Akın, B. 2008. Türkiye'nin Sınırını Aşan Suları ve Politikaları, II. Su Politikaları Kongresi, 20-22 Mart 2008, TMMOB, Ankara.

Al- Mamoori, A.M.J., Alzubaidy, F.M., Abd Al- Rezzaq, A.J., Hadi, M.A., Yass, M.J. 2014. Biomarkers of chlorfos toxicity in common carp *Cyprinus carpio*. ***Journal of Environmental Science Toxicology and Food Technology,*** 8 (1): 109- 112.

Alazemi, B.M., Lewis, J.W., Andrews, E.B. 1996. Gill damage in the freshwater fish *Gnathonemus petersii* (Family: Mormyridae) exposed to selected pollutants: an ultrastructural study. ***Environmental Technology***, 17:225-238.

Almedia, J.A, Diniz, Y.S., Marques, S.F.G., Faine, L.A., Ribas, B.O., Burneiko, R.C., Novelli, E.L.B. 2002. The use of the oxidative stress responses as biomarkers in nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination. ***Environment International,*** 27(8): 673-679.

Antychowicz, J., Szymbor, E., Roszkowski, J. 1979. Investigations upon the effects of some pesticides on carp (*Cyprinus carpio*). ***Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy***, 23: 124-130.

ANZECC, 1992. Australian water quality guidelines for fresh and marine waters. National water quality management strategy paper no. 4. Australian and New Zealand Environment and Conservation council, Canberra.

Au D.W.T. 2004. The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review. ***Marine Pollution Bulletin***, 48: 817-834.

Au, D.W.T., Wu, R.S.S, Zhou, B.S., Lam, P.K.S. 1999. Relationship between ultrastructural cahnges and EROD activities in liver of fish exposed to Benzo[a]pyrene. ***Environmental Pollution,*** 104(2): 235-247.

Aydın R., Köprücü K. 2005. Acute toxicity of Diazinon on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae. ***Pesticide Biochemistry and Physiology***, 82: 220–225.

Ballatori, N., Boyer, J.L. 1996. Disruption of cell volume regulation by mercuric chloride is mediated by an increase in sodium permeability and inhibition of an osmolyte channel in skate hepatocytes. ***Toxicology and Applied Pharmacology***, 140: 404–410.

Banaee, M., Sureda, A., Mirvagefei, A.R., Ahmadi, K. 2013. Histopathological alterations induced by Diazinon in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). ***International Journal of Environmental Research,*** 7(3):735-744.

Barlas, N. 1999. Histpathological examination of gill, river and kidney tissues of carb (*Cyprinus carpio* L., 1758) fish upper Sakarya river basin. ***Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences***, 23: 277-284.

Baron, R.L., Carbamate insecticides. In: Hayes WJ Jr, Laws FL Jr (eds). 1991. "Handbook of pesticide toxicology" vol. 3. Academic, New York, pp 1125–1189.

Barros, L.F., Kanaseki, T., Sabirov, R., Morishima, S., Castro, J., Bittner, C.X., Maeno, E., Ando-Akatsuka, Y., Okada, Y. 2003. Apoptotic and necrotic blebs in epithelial cells display similar neck diameters but different kinase dependency. ***Cell Death and Differentiation***, 10: 687–697.

Bernet, D., Schmidt, H., Meier, W., Burkhardt-Holm, P., Wahli, T. 1999. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. ***Journal of Fish Diseases***, 22(1): 25-35.

Beyer, J. 1996. Fish biomarkers in marine pollution monitoring; evaluation and validation in laboratory and field studies. Academic thesis, University of Bergen, Norway.

Bhattacharya, L., Pandey, A.K. 1989. Inhibition of steroidogenesis and pattern of recovery in testes of DDT exposed cichlid *Oreochromis mossambicus*. ***Bangladesh Journal of Zoology***, 17: 1–14.

Biagianti-Risbourg, S., Bastide, J. 1995. Hepatic perturbations induced by a herbicide (Atrazine) in juvenile grey mullet *Liza ramada* (Mugilidae, Teleostei): an ultrastructural study. ***Aquatic Toxicology,*** 31: 217–229.

Billard, R. 1986. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. ***Reproduction Nutrition Development,*** 6: 877-920.

Boateng, J.O, Nunoo1, F.K.E, Dankwa, H.R., Ocran, M.H. 2006. Acute toxic effects of deltamethrin on tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). ***West Africa Journal of Applied Ecology***, 9: 0855-4307.

Boran, H., Altinok, I., Capkin, E. 2010. Histopathological changes induced by maneb and Carbaryl on some tissues of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss,* ***Tissue and Cell***, 42: 158–164.

Braman SK. 1997. Assessment of pesticide use by commercial landscape maintenance and lawn care firms in Georgia. ***Journal of Entomological Science***, 32: 403–411.

Brandbury, S.P., Coats, J.R. 1989. Comparative toxicology of phyrethroid insecticides. ***Reviews of Environmental Contamination and Toxicology,*** 108: 133–177.

Braunbeck T, Storch V, Bresch H. 1990. Species-specific reaction of liver ultrastructure of zebra fish (*Brachydanlo rerio*) and trout (*Salmo gairdneri*) after prolonged exposure to 4-chloroaniline. ***Archives of Environmental Contamination and Toxicology***, 19: 40

Braunbeck T., Storch V. 1989. Zelle und Umwelt: Wie wirken sich Umweltgifte auf Zellen aus? ***Biologie in unserer Zeit***, 19: 127-132.

Braunbeck, T. 1998. Cytological alterations in fish hepatocytes following in vivo and in vitro sublethal exposure to xenobiotics-structural biomarkers of environmental contaminations. Editörler: Hinton, D.J., Braunbeck, T. and Streit, B., Fish Ecotoxicology: Birkhauser Verlag, 61-139. Basel, İsviçre.

Braunbeck, T., Storch, V., Nagel, R. 1989. Sex-specific reaction of liver ultrastructure in zebra fish (*Branchydunio rerio*) after prolonged sublethal exposure to 4-nitrophenol. ***Aquatic Toxicology,*** 14: 185-202.

Braunbeck, T., Volkl, A. 1993. Toxicant induced cytological alterations in fish liver as biomarkers of environmental pollution: A case study on hepatocellular effects of dinitro-o-cresol in golden ide (*Leuciscus idus melanotus*). Editörler: Braunbeck, T., hanke, W. and Segner, H., Fish ecotoxicology and Ecophysiology: VCH Verlagsgesellschaft, 55-80. Weinheim, Almanya.

Bravo, M.I., Medina, J., Marcano, S., Finol, H.J., Boada-Sucre, A. 2005. Effects of herbicide on the kidney of two Venezuelan fish: *Caquetaia kraussi* and *Colossoma masropomum* (Pisces: Ciclidae and Characeae). ***Revista de Biología Tropical***, 53(1): 55-60.

Brewer, S.K., Atchison, G.J. 1999. The effects of chlorpyrifos on cholinesterase activity and foraging behavior in the dragonfly, *Anax junius* (Odonata). ***Hydrobiologia***, 394: 201–208.

Broedersz, C.P., Brangwynne, C.P. 2013. Nuclear mechanics: Lamin webs and pathological blebs. ***Nucleus***, 4(3): 156–159.

Broeg, K., Köhler, A., Westernhagen, H.V. 2002. Disorder and recovery of environmental health monitored by means of lysosomal stability in liver of European flounder *Platichthys flesus* L. ***Marine Environmental Research***, 54: 569–573.

Brooks, G.T. 1974. Chlorinated insecticides. Technology and Application Vol.I. Ed. Zweig, G. CRC Press, Inc, USA

Bucheli, T.D., Fent, K. 1995. Induction of cytochrome P450 as a biomarker for environmental contamination in aquatic ecosystems. ***Critical Reviews in Environmental Science and Technology***, 25: 201-268.

Bucher, F., Hofer, R. 1993. The effects of treated domestic sewage on three organs (gills, kidney, liver) of brown trout (*Salmo trutta*). ***Water Research***, 27: 255-261.

Bucke, D., Vethaak, D., Lang, T., Mellergaard, S. 1996. Common diseases and parasites of fish in North Atlantic: trainin guide for identification. International Council for the Exploration of the Sea Techniques in Marine Environmental Sciences, Cophenhagen.

Burkhardt-Holm, P., Oulmi, Y., Schroeder, A., Storch, V., Braunbect, T. 1999. Toxicity of 4-chloraniline in early life stages of zebra fish (*Danio rerio*): II. Cytopathology and regeneration of liver and gills after prolonged exposure to waterborne 4-chloraniline. ***Archives of Environmental Contamination and Toxicology,*** 37: 85-102.

Bury N.R., Li, J., Flik, G., Lock, R.A.C., Wendelaar Bonga, S.E. 1998. Cortisol protects against copper induced necrosis and promotes apoptosis in fish gill chloride cells in vitro. ***Aquatic Toxicology***, 40: 193-202.

Butchiram, M.S., Vijaya Kumar, M., Tilak, K.S. 2013. Studies on the histopatholoigcal changes in selected tissues of fish *Labeo rohita* to phenol. ***Journal of Environmental Biology***, 34: 247-251.

Byczkowski, J. 1976. The mode of action of P, P-DDT on mammalian mitochondria. ***Toxicology***, 6: 309-314.

Cajaraville, M.P., Orbea, A., Marigomez, I., Cancio, I. 1997. Peroxisome proliferation in the digestive epithelium of mussels exposed to the water accommodated fraction of three oils. ***Comparative Biochemistry and Physiology-Part C***, 117: 233–242.

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

Cardoso, E.I., Chiarmi-Garcia, H., Ferreira, R.M.A., Poli, C.R. 1996. Morphological changes in the gills of *Lophiosilurus alexandri* exposed to un-ionized ammonia. ***Journal of Fish Biology***, 49: 778-787.

Cavas. S., Ergene-Gozukara, S. 2005. Induction of micronuclei and nuclear abnormalities in *Oreochromis niloticus* following exposure to petroleum refinery and chromium processing plant effluents. ***Aquatic Toxicology***, 74: 264-271.

Cengiz E.İ. 2006. Gill and kidney histopathology in the freshwater fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin. ***Environmental Toxicology and Pharmacology***, 22: 200–204.

Cengiz, E.I., Unlu, E., Balci, K. 2001. The histopathological effects of thiodan on the liver and gut of mosquitofish, *Gambusia affinis*. ***Journal of Environmental Science and Health Part B***, 36(1): 75-85.

Chambers, J.E., Boon, S.J., Carr, R.L., Chambers, H.W., Straus, D.L. 2002. Biomarkers as predictors in health and ecological risk assessment. ***Human and Ecological Risk Assessment***, 8: 165-176.

Cheville, N.F. 1994. Ultrastructural Pathology: An introduction to interpretation. 1st ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 67-68.

Christopher, S.V., Bird, K.T. 1992. The effects of herbicides on development of *Myriophyllum spicatum* L. cultured in vitro. ***Journal of Environmental Quality***, 21: 203-207.

Connell, D.W., Lam, P.K.S., Richardson, B.R., Wu, R.S.S. 1999. Introduction to Ecotoxicology. Blackwell Science, Sayfa: 170, Abingdon.

Contreras, H.R., Paredes, V., Urquieta, B., Del Valle, L., Bustos-Obregîn, E. 2006. Testosterone production and spermatogenic damage induced by organophosphorate pesticides. ***Biocell***, 30: 423-429.

Crespo, S. 1982. Surface morphology of dogfish, *Scyliorhinus canicula*, gill epithelium, and surface morphological cahnges following treatment with zinc sulphate: a scanning electron microscope study. ***Marine Biology,*** 67:159-166.

Curry, F.E., Adamson, R.H. 2012. Endothelial glycocalyx: permeability barrier and mechanosensor. ***Annals of Biomedical Engineering,*** 40: 828–839.

Çepel, N. 2003. Ekolojik Sorunlar ve Çözümleri, TÜBİTAK Popüler Bilim Kitapları, Ankara.

Dane, M.J., van den Berg, B.M., Avramut, M.C., Faas, F.G., van der Vlag, J., Rops, A.L., Ravelli, R.B., Koster, B.J., van Zonneveld, A.J, Vink, H., Rabelink, T.J. 2013. Glomerular endothelial surface layer acts as a barrier against albumin filtration. ***American Journal of Pathology,*** 182: 1532–1540.

David, B.V., Somasundram, L. 1985. Synthetic Pyrethroits an Evaluation of Their Potential Effect on Non Target Organisms***. Pesticides***, 19: 9-12.

Dayan, D., Wolman, M. 1993. Lipid Pigments. Gustav Fischer Verlag, New York.

De Waard, M. A., Georgopoulos, S. G., Hollaman, D.W.; Ishii, H.P., Leroux Ragsdale, N.N., Schwinin F.J. 1993. Chemical control of plant diseases: Problem and prospects. ***Annual Review of Phytopathology,*** 31: 403-421.

Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C., Burçak, A. 2005. Türkiye'de pestisit kullanımı, kalıntı ve organizmada duyarlılık azalması sorunları, Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongre, 3-7 Ocak 2005.

Deore S.V., Wagh S.B. 2012. Heavy metal induced histopatholoigcal alterations in liver of *Channa gachua* (Ham), ***Journal of Experimental Biology***, 3(3): 35-38.

Depledge, M.H., Fossi, M.C. 1994. The role of biomarkers in environmental assessment (2). Invertebrates. ***Ecotoxicology***., 3: 161-172.

Devine G.J., Furlong M.J. 2007. Insecticide use: Contexts and ecological consequences, ***Agriculture and Human Values***, 24: 281–306

Dezfuli, B.S., Simoni, E., Giari, L., Manera, M. 2006. Effects of experimental terbuhylazine exposure on the cells of *Dicentracchus Labrax* (L.). ***Chemosphere***, 64: 1684-1694.

Diazani, M.U. 1957. The content of adenosine polyphosphates in fatty liver. ***Biochemical Journal,*** 65: 116.

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

dos Santos, D.C.M., da Matta, S.L.P., de Oliveira, J.A., dos Santos, J.A.D. 2012. Histological alterations in gills of *Astyanax aff. bimaculatus* caused by acute exposition to zinc. ***Experimental and Toxicologic Pathology***, 64: 861–866

Dökmeci, İ. 1988. Toksikoloji: Akut Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul.

Dutta, H.M. 1996. A composite approach for evaluation of the effect of pesticides on fish. Editörler: Munshi, J.S.D., Dutta, H.M., Fish morphology: Horizons of New Research. Science Publishers Inc., 249-277, New York, USA.

Dutta, H.M., Meijer, H.J. 2003. Sublethal effects of Diazinon on the structure of the testis of bluegill, *Lepomis macrochirus*: a microscopic analysis. ***Environmental Pollution***, 12: 355-360.

Dutta, H.M., Munshi, J.S.D., Roy, P.K., Singh, N.K., Adhikari, S., Killius, J. 1996. Ultrastructural changes in respiratory lamellae of the catfish, *Heterpneustes fossilis*, after sublethal exposure to malathion. ***Environmental Pollution,*** 92(3): 326-341.

Eells, J.T., Rasmussen, J.L., Bandettini, P.A., Propp, J.M. 1993. Differences in the Neuroexcitatory Actions of Pyrethroid Insecticides and Sodium Channel Specific Neurotoxins in Rat and Trout Brain Synaptosomes. ***Toxicology and Applied Pharmacology***, 123(1): 107-119.

El-Sherif, M.S., Ahmed, M.T., El-Danasoury, M.A., El-Nwish, N.H.K. 2009. Evaluation of Diazinon Toxicity on Nile Tilapia Fish (*O. niloticus*). ***Journal of Fisheries and Aquatic Science***, 4(4): 169-177

EPA. 2004. "Carbaryl Interim Reregistration Eligibility Decision (IRED) Facts". EPA, Office of Pesticide Programs, pp 318.

EPA. 2009. User's Guide and Technical Documentation, KABAM Version 1.0 (Kow (based) Aquatic BioAccumulation Model) Environmental Fate and Effects Division Office of Pesticide Programs, U.S. Environmental Protection Agency Washington, D.C.

Evans, D.H., Piermarini, P.M., Potts, W.T.W. 1999. Ionic transport in the fish gill epithelium. ***Journal of Experimental Zoology,*** 283: 641–652.

Evans, D.H. 1987. The fish gill: site of action and model for toxic effects of environmental pollutants. ***Environmental Health Perspectives***, 71: 47-58.

Fahimi, H.D., Cajaraville, M.P., 1995. Induction of peroxisome proliferation by some environmental pollutants and chemicals in animal tissues. Editörler: Cajaraville, M.P., Cell Biology in Environmental Toxicology. University of the Basque Country Press Service, 221–255, Bilbo.

Fanta E., Rios F.S., Romao S., Vianna A.C.C., Freiberger, S. 2003. Histopathology of the fish Corydoras paleatus contaminated with sub lethal levels of organophosphorus in water and food. ***Ecotoxicology and Environmental Safety***, 54: 119-130.

Fawcett, D.W., Jensh, R.P. 2002. Epithelium. Concise Histology. 2nd Edition. Arnold Publishers, 29-41. Londra, İngiltere.

Ficher-Scherl, T., Veeser, A., Hoffman, R.W., Kuhnhauser, C., Negele, R.D., Euringmann, T. 1991. Morphological effects of acure and chronic Atrazine exposure in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). ***Archives of Environmental Contamination and Toxicology,*** 20: 454-461.

Figueiredo-Fernandes, A., Ferreira-Cardoso, J.V., Garcia-Santos, S., Monteiro, S.M., Carrola, J., Matos, P., Fontaínhas-Fernandes, A. 2007. Histopathological changes in liver and gill epithelium of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to waterborne copper. ***Pesquisa Veterinária Brasileira***, 27(3): 103-109.

Gaikwad, M.V., Banmeru, P.K., Khillare, Y.K. 2016. Morphological Study and Role of Gonad Cells in Freshwater Fish- Reproduction***. International Journal of Life Sciences Scientific Research***, 2(2): 93-96.

Gallo, M.A., Lawryk, N.J. 1991. Organic Phosphorus Pesticides. Editörler: Hayes, W.J., Jr., Laws, E.R. Handbook of Pesticide Toxicology: Classes of Pesticides, 917–1123. No. 2 Academic Press, New York, USA.

Garcia-Santos, S., Fontainhas-Fernandes, A., Wilson, J.M. 2006. Cadmium Tolerance in the Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Following Acute Exposure: Assessment of Some Ionoregulatory Parameters. ***Environmental Toxicology***, 21(1): 33-46.

Gernhofer, M., Pawert, M., Schramm, M., Mulier, E., Triebskorn, R. 2001. Ultrastructural biomarkers as tools to characterize the health status of fish contaminated streams. ***Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery***, 8(3-4): 241-260.

Ghadially F.N. 1988. Ultrastructural pathology of the cell and matrix, Butterworths, 130, Londra, İngiltere.

Ghosh, P., Bhattacharya, S., Bhattacharya, S. 1990. Impairment of the regulation of gonadal function in Channa punctatus by metacid-50 and Carbaryl under laboratory and field conditions. ***Biomedical and Environmental Sciences***, 3: 106–112.

Giari, L., Manera, M., Simonii E., Dezfuli, B.S. 2007. Cellular alterations in different organs of European Sea bass *Dicentracchus Labrax* (L.) exposed to cadmium. ***Chemosphere***, 67: 1171-1181.

Giaria, L., Simonia, E., Manerab, M., Dezfuli, B.S. 2008. Histo-cytological responses of Dicentrarchus labrax (L.) following mercury exposure. ***Ecotoxicology and Environmental Safety***, 70: 400–410.

Gibbs, K.E., Mingo, T.M. 1984. Courtmanch DL Persistence of Carbaryl (Sevin-4-Oil) in woodland ponds and its effects on pond macroinvertebrates following forest spraying. ***The Canadian Entomologist***, 116: 203–213.

Gibson, G., Lake, B. 1993. Peroxisomes: Biology and Importance in Toxicology and Medicine. Taylor & Francis, London.

Gingerich, W.H. 1982. Hepatic toxicology of fishes. Editörler: Weber, L.J. Aquatic toxicology, 55-105. Raven Press. New York, USA.

Giordano, G., Afsharinejad, Z., Guizetti, M., Vitalone, A., Kavanagh, J.T., Costa, G.L. 2007. Organophosphorus Insecticides Chlorphyrifos and Diazinon and Oxidative Stress in Neuronal

Cells in a Genetic Model of Glutathione Deficiency. ***Toxicology and Applied Pharmacology***, 219: 181-189.

Gluth, G., Hanke, W. 1985. A comparison of physiological changes in carp, *Cyprinus carpio*, induced by several pollutants at sublethal concentrations. I. The depedency on exposure time. ***Ecotoxicology and Environmental Safety***, 9: 179-188.

Goss, G.G., Perry, S.F., Laurent P. 1995. Ultra structural and morphometric studies on ion and acid—base transport processes in freshwater fish. Editörler: Wood, C.M., T.J. Shuttleworth. Cellular and Molecular Approaches to Fish Ionic Regulation, Fish Physiology, 257-284. No. 14, Londra, İngiltere.

Greco A.M., Gilmour K.M., Fenwick J.C., Perry S.F. 1995. The effects of soft water acclimation on respiratory gas transfer in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, ***Journal of Experimental Biology***, 198: 2557-2567.

Grier, H.J., Hurk Van Den, R., Billard, R. 1989. Cytological identification of cell types in the testis of *Esox lucius* and *E. niger*. ***Cell and Tissue Research***, 257: 491-496

Grier, H.J., Linton, J.R. 1977. Ultrastructural indentification of the Sertoli cell in the testis of the Northern Pike, *Esox lucius*. ***American Journal of Anatomy***, 149: 282-288.

Grier, H.J., Uribe, M.C., Parenti, L.R., De La Rosa-Cruz, G. 2005. Fecundity, the germinal epithelium, and folliculogenesis in viviparous fishes. Editörler: Uribe, M.C., Grier, H.J. Viviparous Fishes. 191-126. New Life Publications Homestead, Florida, USA.

Grier, H.J., Uribe, M.C. 2009. Chapter 4. Male Reproductive System: Testis, Spermatogenesis and Testicular Cycles. Editörler: Jamieson, B. Reproductive Biology and Phylogeny of Fish (Agnatha and Osteichthyes). 119-142. Science Publishers, Inc. Enfield. NH, USA; Plymouth, UK.

Grier, H.J. 1981. Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. ***American Zoologist***, 21: 345-357.

Grier, H.J. 1993. Comparative organization of Sertoli cells including the Sertoli cell barrier. Editörler: Russell, L.D., Griswald, M.D. The Sertoli Cell. 703-739. Cache River Press, Clearwater, Florida, USA.

Gruber, S.J., Munn, M.D. 1998. Organophosphate and carbamate insecticides in agricultural waters and cholinesterase (Che) inhibition in common carp (*Cyprinus carpio*). ***Archives of Environmental Contamination and Toxicology,*** 35: 391–396.

Grund, S., Keiter, S., Bttcher, M., Seitz, N., Wurm, K., Manz, W., Hollert, H., Braunbeck, T. 2010. Assessment of fish health status in the upper Danube river by investigation of ultrastructural alterations in the liver of barbel *Barbus barbus*. ***Diseases of Aquatic Organisms***, 88: 235-491.

Gundersen, D.T., Miller, R., Mischler, A., Elpers, K., Mims, S.D. 2000. Biomarker response and health of polychlorinated biphenyl and chlordane contaminated paddle fish from the Ohio River Basin,USA. ***Environmental Toxicology and Chemistry***, 19: 2275–2285.

Gurr, E. 1972. Biological Staining Methods. Kent Printers. 143. Tonbridge.

Güler, Ç., Çobanoğlu, Z. 1997. Pestisitler, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No: 52, Ankara.

Gültekin, F., Delibas, N., Yasar, S., Kılınç, I. 2001. In vivo changes in antioxidant systems and protective role of melatonin and a combination of Vitamin C and Vitamin E on oxidative damage in erythrocytes induced by chlorpyrifos-ethyl in Rat. ***Archives of Toxicology,*** 75: 88-96.

Hacking, M.A., Budd, J., Hodson, K. 1978. The ultrastructure of the liver of the rainbow trout: normal structure and modifications after chronic administration of a polychlorinated biphenyl aroclor 1254. ***Canadian Journal of Zoology,*** 56: 477-491.

Hadi, A.A., Alwan, S.F. 2012. Histopathological changes in gills, liver and kidney of fresh water fish, *Tilapia zillii*, exposed to aluminum. ***International Journal of Pharmaceutical and Life Sciences***, 3(11): 2071-2081.

Hampton, J.A., McCuskey, P.A., McCuskey, R.S., Hinton, D.E. 1985. Functional units in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) liver. I. Arrangement and histochemical properties of hepatocytes. ***The Anatomical Record***, 213: 166-175.

Hawkes, J.W. 1980. The effects of xenobiotics on fish tissue: morphologhical studies. ***Federation Proceedings***, 39: 3230-3236.

Haya, K. 1989. Toxicity of pyrethroid insecticides to fish. ***Environmental Toxicology and Chemistry***, 8: 381-391.

Hayes, K.C., Potter, P.J., Wolfe, D.L. 1994. 4-Aminopyridine in patients with spinal cord injury. ***Journal of Neurotrauma***, 11: 433-46.

Hazarika, A., Sankar, A.N., Hajare, S., Kataria, M., Malik, J.K. 2003. Influence of Malathion Pretreatment on Toxicity of Anilofos in Male Rats: A Biochemical Interaction Study. ***Toxicology***, 185: 1-8.

Herraez, M.P., Zapata, A.G. 1991. Structural characterization of the melano-macrophage centres of goldfish *Carassius auratus.* ***European Journal of Morphology,*** 29: 89–102.

Hibiya, T. 1982. An atlas of fish histology: Normal and pathological features. pp. 82-90. Kodansha (Ltd.), Japan

Hinton D.E. 1995. Cells, cellular responses and their markers on chronic toxicity of fishes. Editörler: Malins, D.C. and Ostrander, G.K. Aquatic Toxicology: Molecular, Biochemical and Cellular Perspectives, 207-239. Lewis Publishers, Boca Raton.

Hinton, D.E., Klaunig, J.E., Lidsky, M.M. 1978. PCB-induced alterations in teleost liver: a model for environmental disease in fish. ***Marine Fisheries Review,*** 40: 47-50.

Hinton, D.E., Laur´en, D.J. 1990. Integrative histopathological approaches to detecting effects of environmental stressors on fishes. ***American Fisheries Society Symposium,*** 8: 51–66.

Hinton, D.E., Baumann, P.C., Gardner, G.R., Hawkins, W.E., Hendricks, J.D., Murchelano, J.D., Okihiro, M.S. 1992. Histopathological biomarkers. Editörler: Huggett, R., Kimerle, R.A., Meherle, P.M., and Bergman, H.L. Biomarkers-bipchemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress. SETAC publication, 155-189. Lewis Publishers, Londra, İngiltere.

Hontela, A. 1998. Interrenal dysfunction in fish from contaminated sites: invivo and in vitro assessment. ***Environmental Toxicology and Chemistry***, 17: 44–48.

Hontela, A., Daniel, C., Rasmussen, J.B. 1997. Structural and functional impairment of the hypothalamo–pituitary–interrenal axis in fish exposed to bleached Kraft Mill effluent in the St Maurice River, Quebec. ***Ecotoxicology,*** 6: 1–12.

Huggett, R.J., Kimerle, R.A., Mehrle, P.M., Bergman, H.L. 1992. Biomarkers. Lewis Publisher, Boca Raton. FL.

Hugla, J.L., Thome, J.P. 1999. Effects of polychlorinated biphenyls on liver ultrastructure, hepatic monooxygenases, and reproductive succuess in barel. ***Ecotoxicology and Environmental Safety,*** 42: 265-273.

Hugla, J.L., Philippart, J.C., Kremers, P., Goffinet, G., Thome, J.P. 1995. PCB contamination of common barbel, *Barbus barbus* (Picces, Cyprinidae), in the River Meuse in relation to hepatic monooxygenase activity and ultrastructural liver change. ***Netherlands Journal of Aquatic Ecology***, 29: 135-145.

Hussein, S.Y., El-Nasser, M.A., Ahmed, S.M. 1996. Comparative Studies on the Effects of Herbicide Atrazine on Freshwater Fish *Oreochromis niloticus* and *Chrysichthyes auratus* at Assiut. ***Egypt. Bull. Environ. Contam. Toxicol***., 57(3): 503-510

International Council for the Exploration of the Sea (ICES). 1997. Special meeting on the use of liver pathology of flatfish for monitoring biological effects of contaminants. International Council for the Exploration of the Sea, Cophenhagen.

Ishaq, M. 2001. Reproductive toxicity of polychlorinated biphenyl (Aroclor 1242) in male *Cyprinion watsoni*. M.Phil thesis, Department of Biological Sciences, Quaid-i-Azam University, Islamabad.

Jeansson, M., Haraldsson B. 2003. Glomerular size and charge selectivity in the mouse after exposure to glucosaminoglycan-degrading enzymes. ***Journal of the American Society of Nephrology***, 14: 1756–1765.

Jewell, S.A., Bellomo, G., Thor, H., Orrenius, S., Smith, M. 1982. Bleb formation in hepatocytes during drug metabolism is caused by disturbances in thiol and calcium ion homeostasis. ***Science***, 217: 1257–1259

Jobling, S., Stumper, J.P. 1993. Detergent components in sewage effluent are weakly oestrogenic to fish: an in vitro study using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. ***Aquatic Toxicology***, 27: 361-372.

Johnson, L.L., Stehr, C.M., Olson, O.P., Myers, M.S., Pierce, S.M., Wigren, C.A., McCain, B.B., Varansi, U. 1993. Chemical contaminants and hepatic lesions in winter flounder (*Pleuronectes americanus*) from notheast Coast of the United States. ***Environmental Science and Thechnology***, 27: 2759-2771.

Wilson, J.M., Laurent, P. 2002. Fish gill morphology: Inside out. J***ournal of experımental zoology***, 293: 192–213.

Jorsaraei, S.G.A., Firoozjaee, A., Pasha, Y.Y., Marzony, E.T., Sarabi, E. 2009. Histopathological effects of single dose treatment of Diazinon on testes structure in rat. ***Yakhteh Medical Journal***. 12(1): 39-42.

Kan, Y. 2011. Tatlısu Balığı Oreochromis niloticus' da Karaciğer Histolojisi ve Yağ Asidi Kompozisyonu Üzerindeki Piyethroit Pestisit Deltamethrinin Etkileri ve E Vitamininin Koruyucu Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır. 19.

Kannan, K. 1997. Fundamentals of environmental pollution S. Chand and Company Ltd., New Delhi, Hindistan.

Keizer, J., D'Agostino, G., Vitozzi, L. 1991. The importance of biotransformation in the toxicity of xenobiotics to fish. I. Toxicity and bioaccumulation of Diazinon in guppy (*Poecilia reticulata*) and zebra fish (*Brachydanio rerio*). ***Aquatic Toxicology***, 21: 239–251.

Kidd, H., James, D.R., Eds. 1991. The Agrochemicals Handbook, (Third Edition). Royal Society of Chemistry Information Services, Cambridge, UK.

Kirk, R.S., Lewis, J.W. 1993. An evaluation of pollutant induced changes in the gills of rainbow trout using scanning electron microscopy. ***Environmental Technology,*** 14: 577-585.

Klaassen C. D. 2001. Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, 763-774. No. 6, McGraw-Hill, USA.

Koç, N.D., Akbulut, C., Kayhan, F.E., Kaymak, G. 2012. Histopathological changes in testis of the swordtail fish, *Xiphophorus helleri* (Pisces: Poecilidae) exposed to deltamethrin. ***Fresenius Environmental Bulletin***, 21(10): 2866-2870.

Koç, N.D., Kayhan, F.E., Sesal, N.C., Contuk, G. 2008. Histological and biochemical effects of endosulfan and malathion on rat testis. ***Fresenius Environmental Bulletin,*** 17: 2262-2265.

Koç, N.D., Muşlu, M.N., Kayhan, F.E., Çolak, S. 2009. Histopathological changes in ovaries of zebrafish (*Danio rerio*) following administration of deltamethrin. ***Fresenius Environmental Bulletin,*** 18: 1872-1878.

Kohler, A., Wahl, E., Soffker, K. 2002. Functional and morphological changes of lysosomes as progmostic biomarkers of toxic liver injury in a marine flatfish (*Platichthys flesus* (L)). ***Environmental Toxicology and Chemistry***, 21: 2434-2444.

Köhler, A., Wahl, E., Schoffker, K. 2002. Functional and Morphological changes of lysosomes as prognostic biomarkers of toxic liver injury in a marine flatfish (*Platichthys flesus* (L.)). ***Environmental Toxicology and Chemistry***, 21: 2434–2444.

Krohne, G., Benavente, R., Scheer, U., Dabauvalle, M.C. 2005. The nuclear lamina in Heidelberg and Würzburg: a personal view. ***European Journal of Cell Biology***, 84: 163-179

Kulreshtha, S.K., Arora, N. 1984. Impairments induced by sublethal doses of 2 pesticides in the ovaries of a freshwater teleost *Channa striatus*. ***Toxic Lett (Shannon)***, 20: 93–98.

Kumar, S., Pant, S.C. 1984. Organal Damage Caused by Aldicarb to a Freshwater Teleost *Barbus conchonius* Hamilton. ***Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology,*** 33: 50-55.

Kumaraguru, A.K., Beamish, F.W.H., Ferguson, H.W. 1982. Direct and circulatory pahs of gastrointestinal tract of fish, *Puntius gonionotus*, fed on dietary cadmium. ***Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology,*** 71: 561-569.

Lacroix, G.L., Peterson, R.H., Belfry, C.S., Martin-Robichaud, D.J. 1993. Aluminium Dynamics on gills of Atlantic Salmon fry in the precence of citrate and effects on integrity of gill structures. ***Aquatic Toxicology,*** 27: 373-402.

Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., Ramade, F. 2000. Use of biomarkers for environmental quality assessment. 55-157. Technique et documentation, Laviosier, Paris.

Lauren, D.J., Wishkovsky, A., Groff, J.M., Hedrick, R.P., Hinton, D.E. 1989. Toxicity and pharmacokinetics of antibiotic fumagillin, in yearling rainbow trout (*Salmo gairdneri*). ***Toxicology and Applied Pharmacology,*** 98: 444-453.

Laurent, P., Hebibi, N. 1989. Gill morphology and fish osmoregulation. ***Canadian Journal of Zoology,*** 67: 3055–3063

Laurent, P. 1984. Gill internal morphology. Editörler: Hoar, W.S., Randall, D.J. Fish physiology, 73–183. No. 10A, Academic Press, New York, USA.

Lee, G.F., Jones, L.A. 1998. Development of a regulatory approach for OP pesticide toxicity to aquatic life in receiving waters for urban stormwater runoff. SETAC meeting, Reno, NV.

Leight, A.K., Van Dolah, R.F. 1999. Acute Toxicity Of The insecticides Endosulfan, Chlorpyrifos And Malathion To The Epibenthic Estuarine Amphıpod *Gammarus palustris* (Bousfield). ***Environmental Toxicology and Chemistry***,18(5): 958–964.

Lewis, S.V. 1979. A scanning electron microscope study of gills of air-Breathing cat fish, *Clarias batrachus*. ***Journal of Fish Biology***, 15: 381-384.

Liong, P.C., Hamzah, W.P., Murugan, V. 1988. Toxicity of Some Pesticides Towards Freshwater Fishes. ***Fish. Bull. Dep. Fish. (Malays)***, 57: 13 p.

Lofts, B. 1968. Patterns of testicular activity. Editörler: Barrington, E.J.W. and Barker, C. Jorgensen Perspectives in endocrinology. 239-304. Academic Press, New York, USA.

Lopez-Barea, J. 1996. Biomarkers to detect environmental pollution. ***Toxicology Letters,*** 88: 79.

Lowe, D.M., Moore, M.N., Clarke, K.R., 1981. Effects of oil on digestive cells in mussels: quantitative alterations in cellular and lysosomal structure. ***Aquatic Toxicology,*** 1: 213–226.

Mallat J. 1985. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. ***Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences***, 42: 630-648.

Mallatt, J., Paulsen, C. 1986. Gill ultrastructure of the Pacific hagfish *Eptatretus stouti*. ***American Journal of Anatomy***, 177: 243–269.

Manahan, S.E. 1991. Water Pollution Environment Chemistry, first ed. Lewis Publishers, London.

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

Manera, M., Serra, R., Isani, G.E., Carpene´, E. 2000. Macrophage aggregates in gilthead sea bream fed cooper, iron and zinc enriched diets. ***Journal of Fish Biology,*** 57: 457–465.

Manjunatha, B., Philip, G.H. 2016. Reproductive toxicity of chlorpyrifos tested in zebrafish (*Danio rerio*): Histological and hormonal end points. ***Toxicology and Industrial Health,*** 32(10): 1808–1816.

Marchand M.J., Van Dyk J.C, Pieterse G.M., Barnhoorn I.E., Bornman M.S. 2009. Histopathological alterations in the liver of the sharp tooth catfish, *Clarias gariepinus* from polluted aquatic systems in South Africa. ***Environmental Toxicolpgy***, 24: 133–147.

Marigomez, I., Orbea, A., Olabarrieta, I., Etxeberria, M., Cajaraville, M.P. 1996. Structural changes in the digestive lysosomal system of sentinel mussels as biomarkers of environmental stress in musselwatch programmes. ***Comparative Biochemistry and Physiology***, 113C: 291–297.

Marshall, W.S., Lynch, E.M., Cozzi, R.R.F. 2002. Redistribution of immunofluorescence of CFTR anion channel and NKCC co-transporter in chloride cells during adaptation of the killifish *Fundulus heteroclitus* to sea water. ***Journal of Experimental Biology***, 205: 1265–1273.

Matei, V.E., Komov, V.T. 1992. The effect of aluminum and low pH of water on gill ultrastructure and electrolyte content in blood plasma of juvenile *Salmo salar*. ***Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology,*** 28: 453-460.

Matos, P., Fontainhas-Fernandes, A., Peixoto, F., Carrola, J., Rocha, E. 2007. Biochemical and histological hepatic changes of nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to Carbaryl. ***Pesticide Biochemistry and Physiology***, 89(1): 73-80

Matsumura, F. 1987. Deltametrin induced changes in synaptosomal transport of 3H-epinephrine in the squid optic lobes. ***Comparative Biochemistry and Physiology***, 87(1): 31-35.

Matta, S.L.P., Vilela, D.A.R., Godinho, H.P., França, L.R. 2002. The goitrogen 6-n-propyl-2-thiouracil (PTU) given during testis development increases Sertoli and germ cell numbers per cyst in fish: the tilapia (*Oreochromis niloticus*) model. ***Endocrinology***, 143: 970-978.

Maxwell, L.B., Dutta, H.M. 2005. Diazinon-induced endocrine disruption in bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*. ***Ecotoxicology and Environmental Safety,*** 60: 21-27.

McCartgy, J.F., Shugart, L.R. 1990. Biomarkers of environmental contaminations. Lewis Publisher, Boca Raton. FL.

McDonald D.G., Wood C.M. 1993. Branchial acclimation to metals. Editörler: Rankin, J.C. and Jensen, F.B. Fish Ecophysiology, 297-321. Chapman and Hall, Londra, İngiltere.

McDonald, D.G., Freda, J., Cavdek, J., Gonzales, R., Zia, S. 1991. Interspecific differences in gill morphology of freshwater fish in relation to tolerance of low-pH environments. ***Physiological Zoology,*** 64(1): 124-144.

Melaa, M., Randia, M.A.F., Venturab, D.F., Carvalhoc, C.E.V., Pelletierd, E., Oliveira Ribeiro C.A. 2007. Effects of dietary methylmercury on liver and kidney histology in theneotropical fish *Hoplias malabaricus*. ***Ecotoxicology and Environmental Safety***, 68: 426–435

Meseguer, J., Lopez-Ruiz, A., Esteban, M.A. 1994. Melano-macrophages of the seawater teleosts, sea bass (*Dicentrarcus labrax*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*): morphology, formation and possible function. ***Cell and Tissue Research,*** 277: 1–10.

Meuwese, M.C., Broekhuizen, L.N., Kuikhoven, M., Heeneman, S., Lutgens, E., Gijbels, M.J., Nieuwdorp, M., Peutz, C.J., Stroes, E.S., Vink, H., van den Berg, B.M. 2010. Endothelial surface layer degradation by chronic hyaluronidase infusion induces proteinuria in apolipoprotein E-deficient mice. ***PLoS ONE***, 5(1): 42-62.

Meyers, T.R.,Hendricks, J.D. 1985. Histopathology. Editörler: Rand, G.M.,Petrocelli, S.R. Fundamentals of aquatic toxicology: Methods and applications. 283– 331. Hemisphere Publishing Corporation, Washington, USA.

Mishra, R., Shukla, S.P. 2003. Endosulfan effects on muscle malate dehydrogenase of the freshwater catfish, *Claria batrachus*. ***Ecotoxicology and Environmental Safety***, 56: 425-433.

Mollendroff. 1973. Cytology and cell physiology. 3rd ed. Academic press. New York.

Moody, D.E. 1994. Peroxisome proliferation: an overview. Editör: Moody, D.E. Peroxisome Proliferator: Unique Inducers of Drug-Metabolizing Enzyme. 1–15. CRC Press, Boca Raton, FL.

Moore M.J., Myers M.S. 1994. Pathobiology of chemical associated neoplasia in fish, ***Aquatic Toxicology***, 24: 327-386.

Mora, B.R. 2000. Relationship between toxicokinetics of Carbaryl and effect on acetylcholinesterase activity in *Pomacea patula* snail. ***Ecotoxicology and Environmental Safety***, 46: 234–239.

Morgan, M., Tovell, P.W.A. 1973. The structure of the gill of the trout *Salmo gairdneri* (Richardson). ***Z. Zellforch. Mikrosk. Anat.,*** 142: 147-162.

Myers M.S., Rhodes L.D., McCain B.B. 1997. Pathologic anatomy and patterns of occurrence of hepatic neoplasms, putative preneoplastic lesions and other idiopathic hepatic conditions in English sole (*Parophrys vetulus*) from Puget Sound, Washington, USA. ***Journal of the National Cancer Institute***, 78: 333-363.

Myers, M.S., Stehr, C.M., Olson, O.P., Johnson, L.L., McCain, B.B., Chan, S.L., Varanasi U. 1993. National benthic surveillance project: Pacific Coast--Fish histopathology and relationships between toxicopathic lesions and exposure to chemical contaminants for cycles I to V (1984-88), 1-147. National technical information service, US.

Myers, M.S., Olson, O.P., Johnson, L.L., Stehr, C.S., Hom, T., Varanasi, U. 1992. Hepatic lesions other than neoplasms in ships with indices of contamiant exposure. ***Marine Enviromental Research,*** 34: 45-51.

Myers, S.M., Johnson, L.L., Olson, O.P., Stehr, C.M., Lomax, D.P., Horness, B.H., Anulacion, B.F., Willis, M.L., Collier, T.K., McCain, B.B., Stein, J.E., Varanasi, U. 1994. Toxicopathic hepatic lesions and other biomarkers of exposure to chemical contaminants in marine bottomfish species from the northeast and Pacific coast, U.S.A. Editörler: Bylund G. and Lönnström, L.G. Diseases and parasites of flounder (*Platichthys flesus*) in the baltic sea, 81-98. No.15. Baltic Marine Biologists Publication, Turku/Abo.

Nascimento, A.A., Araujo, F.G., Gomes, I.D., Mendes, R.M.M., Sales, A. 2012. Fish Gills Alterations as Potential Biomarkers of Environmental Quality in a Eutrophized Tropical River in South-Eastern Brazil. ***Anatomia Histologia Embryologia***, 41: 209–216

Newstead JD. 1967. Fine structure of the respiratory lamellae of teleostean gills. ***Z Zellforsch,*** 79: 396–428.

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

Nott, J., Moore, M.N. 1987. Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on molluscan lysosomes and endoplasmic reticulum. ***Histochemical Journal***, 19: 357–368.

NRC (National Research Council). 1987. Biological markers in environmental health research**.** ***Environmental Health Perspectives***, 74: 3-9.

Olson, K.R. 1996. Scanning electron microscopy of the fish gill. In: Munshi JSD, Dutta HM, editors. Fish morphology. Horizon of new research. Rotterdam: AA Balkema. p 32–45.

Oransayei, J.A.O, Brafield, A.E. 1984. The effect of dissolved cadmium on chloride cells of the gills of stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. ***Journal of Fish Biology***, 25: 253-258.

Orbea, A., Cajaraville, M.P., 2001. Field validation of peroxisome proliferation in mussels as biomarker of organic pollution: a transplant experiment. 11th Annual Meeting of SETAC Europe, 6–10 Mayıs 2001, Madrid, Spain, S, 73.

Orbea, A., Marigomez, I., Fernandez, C., Tarazona, J.V., Cancio, I., Cajaraville, M.P. 1999. Structure of peroxisomes and activity of the marker enzyme catalase in digestive epithelial cells in relation to PAH content of mussels from two basque estuaries (Bay of Biscay): seasonal and site-specific variations. ***Archives of Environmental Contamination and Toxicology***, 36: 158–166.

Fishbase. 2015. *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) Erişim: [http://www.fishbase.org/summary/Oreochromis-niloticus.html] Erişim Tarihi: 13.07.2015

Oronsaye, J.A.O. 1989. Histological changes in the kidneys and the gills of stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L., exposed to dissolved cadmium in hard water. ***Ecotoxicology and Environmental Safety***. 17: 279-290.

Ortiz J.B., M. González de canales, L., Sarasquete, C. 2003. Histopathological changes induced by lindane (γ-HCH) in various organs of fishes. ***Scientia Marina,*** 67(1): 53-61.

Oulmi, Y., Negele, R.D., Braunbeck T. 1995. Cytopathology of liver and kidney in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* after long term exposure to sub-lethal concentrations of linuron. ***Diseases of Aquatic Organisms***, 21: 35-52.

Özten Kandaş, N. 2004. Apoptosis, programlı hücre ölümü. ***Ankara Üniversitesi Dikimevi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi***, 5: 7-10.

Öztürk, S., Tarım İlaçları, Hasad Yayınevi, İstanbul, (1990).

Pacheco, M., Santos, M. A. 2002. Biotransformation, genotoxic and histopathological effects of environmental contaminants in European eel, *Anguilla anguilla* L. ***Ecotoxicology and Environmental Safety***, 53: 331-347

Palaniappan, P.L.R.M., Sabhanayakam, S., Krishnakumar, N., Vadivelu, M. 2008. Morphological changes due to lead exposure and the influence of DMSA on the gill tissues of the fresh water fish *Catla catla*. ***Food and Chemical Toxicology,*** 46: 2440-2444.

Pandey, A.K., Shukla, L. 1980. Effect of benzenehexachloride an insecticide on the testicular histology in *Oreochromis mossambicus*. ***Geobios***, 7: 251–253.

Pant, N., Shankar, R., Srivastava, S.P. 1996. Spermatotoxic effects of Carbaryl in rats. ***Human and Experimental Toxicology***, 15: 736–738.

Patino, R., Takashima, F. 1995. Gonads. Editörler: Takashima, F., Hibiya, T. An atlas of fish histology, Normal and pathological features. 128-153. Kodanska Ltd/ Gustav Fisher Verlag. Tokyo, Stuttgart, New York.

Pawert, M., Mulier, E., Triebskom, R. 1998. Ulrastructural Cahnges in fish gills as biomarker to assess small stream pollution. ***Tissue and Cell***, 30: 617-626.

Peakall, D. 1992. Animal Biomarkers as Pollution Indicators. Chapman and Hall, New York. 291 pp.

Peakall, D.W. 1994. Biomarkers: the way forward in environmental assessment. ***Toxicology and Ecotoxicology News***, 1: 55-60.

Peebuaa, P., Kruatrachuea, M., Pokethitiyooka, P., Kosiyachindaa, P. 2006. Histological effects of contaminated sediments in Mae Klong River tributaries, Thailand, on Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. ***Science Asia***, 32: 143-150.

Pelgrom, S.M.G.J., Lamers, L.P.M., Lock, R.A.C., Balm, P.H.M., Wendelaar Bonga, S.E. 1995. Interactions between copper and cadmium modify metal oragn distribution in mature tilapia, *Oreochromis mossambicus*. ***Environmental Pollution***, 90: 415-423.

Pereira, J.J. 1988. Morphological effects of mercury exposure on windowpane flounder gills as observed by scanning electron microscopy. ***Journal of Fish Biology***, 33: 571-580.

Perry, S.F. 1997. The chloride cell: structure and function in the gills of freshwater fishes. ***Annual Review of Physiology***, 59: 325–347.

Peterson, J.L. 2001. A test system to evaluate the susceptibility of Oregon, USA, native stream invertebrates to triclopyr and Carbaryl. ***Environmental Toxicology and Chemistry***, 20: 2205–2214.

Peti-Peterdi, J., Sipos, A. 2010. A high-powered view of the filtration barrier. ***Journal of the American Society of Nephrology***, 21: 1835–1841.

Pfeifferl, C.J., Qiul, B., Cho, C.H. 1997. Electron microscopic perspectives of gill pathology induced by 1-naphthyl-N- methylcarbamate in the goldfish (*Carassius auratus* Linnaeus). ***Histology and Histopathology***, 12: 645-653

Piner, P., Üner, N. 2012. Oxidative and apoptotic effects of Lambda-cyhalothrin modulated by piperonyl butoxide in the liver of *Oreochromis niloticus*. ***Environmental Toxicology and Pharmacology***, 33: 414-420

Porte, C., Sole, M., Borghi, V., Ortiz, M., Orbea, A., Cajaraville, M.P. 1998. Application of a battery of biochemical and cellular markers in mussels to assess environmental pollution along the Mediterranean coast. 8th Annual Meeting SETAC-Europe, Abstract Book, S, 52.

Powers, D.A. 1989. Fish as model systems. ***Science***, 246: 352-358.

Pratap, H.B., Wendelaar Bonga, S.E. 1993. Effects of ambient and dietry cadmium on pavement cells, chloride cells and Na^+/K^+-ATPase activity in the gills of the freshwater teleost *Oreochromis mossambicus* at normal and high calsium levels in the ambient water. ***Aquatic Toxicology,*** 26: 133-155.

Puigdoller, K.N., Bjornsson, B.T., McCormick, S.D. 2007. Effects of hexazinone and Atrazine on the physiology and endocrinology of smolt development in Atlantic salmon. ***Aquatic Toxicology***, 84: 27-37.

Quabius, E.S., Nolan, D.T., Alinn, C.J., Wendelaar Bonga, S.E. 2000. Influence of dietary exposure to polychlorinated biphenyl 126 and nutritional state on stress response in tilapia (*Oreochromus mossambicus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). ***Environmental Toxicology and Chemistry***, 19: 2892–2899

Rabitto, I.S., Costa, J.R.M.A., Silva de Assis, H.C., Randi, M.A.F., Akaishi, F.M., Pelletier, E., Oliveira Ribeiro, C.A. 2005. Dietary Pb (II) and TBT (tributyltin) exposures to neotropical fish *Hoplias malabaricus*: Histopathological and biochemical findings. ***Ecotoxicology and Environmental Safety,*** 60: 147–156.

Rajdeep, K., Sandhu, H.S. 2008. In vivo changes in antioxidant system and protective role of selenium in chlorpyrifos-induced subcronic toxicity in *Bubalus bubalis*. ***Environmental Toxicology and Pharmacology***, 26: 45-48.

Ramesh, M., Srinivasan, R., Saravanan, M. 2009. Effect of Atrazine (Herbicide) on blood parameters of common carp *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes). ***African Journal of Environmental Science and Technology***, 3: 453-458.

Rand, G.M. 1995. Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate, and risk assessment, 1125. No. 2. Taylor and Francis, Washington, USA.

Rankin, J.C., Stagg, R.M., Bolis, L. 1982. Effects of pollutatnts on gills. Editörler: Houlihan, D.F., Rankini J.C. and Shttleworth, T.J. Gills. 207-220. Cambridge University Press, New York, USA.

Ravaglia, M.A., Meseguer, M.C. 1995. Melano-macrophage centres in the gonads of the swamp eel, *Synbranchus marmoratus* Bloch, (Pisces, Synbranchidae): histological and histochemical characterization. ***Journal of Fish Diseases***, 18: 117–125.

Reddy. P.B., Baghel. B.S. 2010. Biochemical and hematological studies on effect of textile Industry effluent in *Muscus albinus*. ***ICEM***., 10(2): 713-719.

Reddy, P.B., Baghel, B.S. 2012. Impact of industrial waste water on the Chambal River and biomarker responses in fish due to pollution at Nagda, M.P. India. ***DAV International Journal of Science***, 1(1): 86-91.

Reddy, P.B., Rawat, S.S. 2013. Assessment of aquatic pollution using histopathology in fish as a protocol. ***International Research Journal of Environment Sciences***, 2(8): 79-82.

Regoli, F., Nigro, M., Orlando, E., 1998. Lysosomal and antioxidant responses to metals in the Antarctic scallop *Adamussium colbecki*. ***Aquatic Toxicology,*** 40: 375–392.

Reimschuessel, R., Bennett, R.O., May, E.B., Lipsk, M.M. 1989. Renal histopathological change in the gold fish (*Carassius auratus*) after sublethal exposure to hexachlorobutadtene. ***Aquatic Toxicology,*** 15: 169-180.

Rez, G. 1986. Electron microscopic approaches to environmental toxicity. ***Acta Biologica Hungarica,*** 37: 31-45.

Ribera, D., Narbonne, J.F., Saint-Denis, M. 2001. Biochemical responses of the earthworm Eisenia fetida andrei exposed to contaminated artificial soil: effects of Carbaryl. ***Soil Biology and Biochemistry,*** 33: 1123-1130.

Rios, F.S., Kalinin, A.L., Rantin, F.T. 2002. The effects of long-term food deprivation on respiration hematology of the neotropical fish *Hoplias malabaricus*. ***Journal of Fish Biology***, 61: 85–95.

Roberts, R.J. 1981. Pathologia de loss Peces. Mundi-Prensa, Madrid.

Roberts, R.J. 1989. The anatomy and physiology of teleost. Editör: Tindall, B. Fish Pathology, 13-55. Londra, İngiltere.

Roncero, V., Gazquez, A., Redondo, E., Moyano, M.C., Duran, E. 1988. Estudio structurally ultrastructural del parenquima renal hemato-poyetico de la tenca (*Tinca tinca* L.). ***Anatomia Histologia Embryologia***, 17: 258-275.

Rosety-Rodríguez M., Ordoñe, F.J., Rosety, J.M. Rosety, Ribelles, A., Carrasco, C. 2002. Morpho-histochemical changes in the gills of turbot, *Scophthalmus maximus* L., induced by sodium dodecyl sulfate. ***Ecotoxicology and Environmental Safety***, 51: 223-228.

Rudnicki, C.A.M., Melo, G.C., Donatti, L., Kawall, H.G., Fanta, E. 2009. Gills of juvemil fish *Piaractus mesopotamicus* as histological biomarkers for experimental sub-lethal contamination with organophosphorus Azodrin 400. ***Brazilian Archives of Biology and Technology,*** 52(6): 1434-1441.

Sadekarpawar, S., Parikh, P. 2013. Gonadosomatic and hepatosomatic indices of freshwater fish *Oreochromis mossambicus* in response to a plant nutrient. ***World Journal of Zoology,*** 8(1): 110-118.

Sakr, S.A., Hanafy, S.M., El-Desouky, N.E. 2011. Histopathological, histochemical and physiological studies on the effect of the insecticide, hostathion, on the liver of the catfish *Clarias gariepinus*. ***Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries***, 6(2): 103-124.

Sanad, S.M., El-Nahass, E.M., Abdel-Gawad, A.M., Aldeeb, M. 1997. Histochemical studies on the liver of mice following chronic administration of sodium barbitone. ***Journal of the Egyptian-German Society of Zoology***, 22(C): 127-165.

Sandoza, C., Lescab, P., Narbonnea, J.F., Carpy, A. 2000. Molecular characteristics of Carbaryl, a CYP1A1 gene inducer. ***Archives of Biochemistry and Biophysics***, 373: 275-280.

Santos, D.M.S., Melo, M.R.S., Mendes, D.C.S., Rocha, I.K.B.S., Silva, J.P.L., Cantanhêde, S.M., Meletti, P.C. 2014. Histological changes in gills of two fish species as indicators of water quality in Jansen Lagoon (São Luís, Maranhão State, Brazil). ***International Journal of Environmental Research and Public Health***, 11(12): 12927–12937.

Saruhan, E., Toral, O. 1980. Bir tropik balık türü olan *Tilapia Nilotica* (Lin.) 1758' in Çukurova Bölgesinde geliştirme sorunları üzerine bir tartışma. Tübitak 7. Bilim Kongresi, 9 Eylül-3 Ekim 1980, İstanbul, S, 43.

Sastry, K.V., Siddiqui, A.A. 1983. Metabolic changes in the snake head fish *Channa punctatus* chronically exposed to endosulfan. ***Water Air and Soil Pollution,*** 19: 133-142.

Schmalz, W.F., Hernandez Jr., A.D., Weis, P. 2002. Hepatic histopathology in two populations of the mummichog, *Fundulus heteroclitus*. ***Marine Environmental Research,*** 54(3–5): 539–542.

Schoor, K.V., Couch, J.A. 1979. Correlation of mixed-function oxidase activity with ultrastructural changes in the liver of marine fish. ***Cancer Biochemistry Biophysics***, 4: 95-103.

Schramm, M., Muller, E., Triebskorn, R. 1998. Brown trout (*Salmo trutta f. fario*) liver ultrastructure as a biomarker for assessment of small stream pollution. ***Biomarkers***, 3: 93-108.

Schulz, R.W., Franca, L.R,. Lareyre, J.J., Legac, F., Chiarini Garcias, H., Nobrega, R.H., Miura, T. 2010. Spermatogenesis in fish. ***General and Comparative Endocrinology,*** 165(3): 390-411.

Schulz, R.W., Menting, S., Bogerd, J., Franca, L.R., Vilela, D.A.R., Godinho, H.P. 2005. Sertoli cell proliferation in the adult testis evidence from two fish species belonging to different orders. ***Biology of Reproduction***, 73: 891-898.

Schwaiger, J., Wanke, R., Adam, S., Pawert, M., Honnen, W., Triebskorn, R. 1997. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant related stress in fish. ***Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery***, 6: 75-86.

Scott, R.P., Quaggin, S.E. 2015. The cell biology of renal filtration. ***Journal of Cell Biology***, 209 (2): 199–210.

Segner, H., Braunbeck, T. 1998. Cellular response profile to chemical stress Editörler: Schuurmann, G. and Markert, B. Ecotoxicology: Ecological Fundamentals, Chemical Exposure, and Biological Effects. 521-569. Wley-Liss, New York, USA.

SETAC, 1992. Biomarkers: biochemical physiological and histological markers of anthropogenic stress. Editörler: Hugget, R.J., Kimerle, R.A., Mehrle, P.M., Bergman, H.L. SETAC Special Publication Series. 347. Lewis Publishers, Chelsea, MI.

Shepard, K.L. 1994. Functions for fish mucus. ***Reviews in fish Biology and Fisheries***., 4: 401-429.

Shimizu, N., Itoh, N., Utiyama, H., Vahl, G.M. 1998. Selective entrapment of extrachromosomally amplified DNA by nuclear budding and micronucleation during the S-phase. ***Journal of Cell Biology***, 140: 1307–1320

Shimizu, N., Shimura, T., Tanaka, T. 2000. Selective elimination of acentric double minutes from cancer cells through the extrusion of micronuclei. ***Mutation Research***, 448: 81–90

Silva, A. G., Martinez, C. B.R. 2007. Morphological changes in the kidney of a fish living in an urban stream. ***Environmental Toxicology and Pharmacology,*** 23: 185–192.

Simenova, A.D. 1999. Behavioural, haematological and histological studies on acute toxicity mercury on *Salmo gaisdneri* Richardson and *Tilapia rendalli* Boulenger. ***Journal of Fish Biology,*** 10: 575–582.

Sinha, N., Adhikari, N., Saxena, D.K. 2001. Effect of endosulfan on the enzymes of polypathway in rat Sertoli germ cell coculture, ***Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology***, 67: 821-827.

Smart, G. 1976. The effect of ammonia exposure on gill structure of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). ***Journal of Fish Biology***, 8: 471-475.

Sola, F., Isaia, J., Mansoni, A. 1995. Effects of copper on gill structure and transport function in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. ***Journal of Applied Toxicology***, 15: 391-398.

Stentiford, G.D., Longshan, M., Lyons, B.P., Jones, G., Green, M., Feist, S.W. 2003. Histopathological biomarkers in estuarine fish species for the assessment of biological effects of contaminants. ***Marine Environmental Research***, 55: 137–159.

Storch, V. 1988. Cell and environment: a link between morphology and ecology. ***Biologia ambiental actas del congreso de biologia ambiental***, 1: 179-191.

Takashima, F., Hibiya, T. 1995. An atlas of fish histology. Normal and pathogical features. 2 nd ed. Tokyo, Kodansha Ltd.

Taylor, E.J., Maund, S.J., Pascoe, D. 1991. Toxicity of four common pollutants to the freshwater macroinvertebrates *Chironomus riparius* Meigen (Insecta: Diptera) and *Gammarus pulex* (L.) (Crustacea: Amphipoda). ***Archives of Environmental Contamination and Toxicology***, 21(3):16-37.

Teh, S., Hung, S., The, F., Deng, D., Werner, I. 2005. Sub lethal toxicity of orchard storm water runoff in Sacramento splittail (*Pogonichthys macrolepidotus*) larvae. ***Marine Environmental Research***, 59(3): 203-216.

Teh, S.J., Adams, S.M., Hinton, D.E. 1997. Histopathological biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress**.** ***Aquatic Toxicology***, 37: 51-70.

Temmink, J., Bowmeister, P., De Jong, P., Van Den Jerg, J. 1983. An ultrastructural study of chromate induced hyperplasia in the gill of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). ***Aquatic Toxicology***, 4: 165-179.

Thomas, P. 1990. Molecular and biochemical responses of fish to stressors and their potential use in environmental monitoring. Editör: Adams, S.M. Biological indicators of stress in Fish. 9-28. American Fisheries Society, Bethesta, MD.

Thomson, S.C., Blantz, R.C. 2010. A new role for charge of the glomerular capillary membrane. ***Journal of the American Society of Nephrology***, 21: 2011–2013.

Thophon, S. Kruatratrachue, M., Upatham, E.S., Pokethitiyook, P., Sahaphong, S., Jaritkhuan, S. 2003. Histopathological alterations of white seabass, *Lates Calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. ***Environmental Pollution,*** 121: 307-320.

Thophon, S., Pokethitiyook, P., Chalermwat, K., Upatham, E.S., Sahaphong, S. 2004. Ultrastructural alterations in the liver and kidney of white sea bass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. ***Environmental Toxicology,*** 19: 11–19.

Timbrell, A.J. 1991. Toxic responses to foreign compounds. Principles of biochemical toxicology. Second Edition, Taylor and Francis, Londra, İngiltere.

Tolbert, P.E., Shy, A.C., Allen, J.W. 1992. Micronuclei and other nuclear abnormalities in buccal smears: methods development. ***Mutation Research,*** 271: 69–77

Topal, S. 2011. Allelokimyasalların herbisit etkileri, ***DPÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi***, 25: 23-26.

Triebskorn, R., Kohler, H.R. 1992. Plasticity of endoplasmic reticulum in three cell types of slugs poisoned by molluscicides. ***Protoplasms***, 169: 120-129.

Triebskorn R., Casper H., Heyd A., Eikemper R., Koehler H.R. and Schwaiger J. 2004. Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part II: Cytological effects in liver, kidney, gills and intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). ***Aquatic Toxicology***, 68:151-166.

Triebskorn R., Kohler H.R., Honnen W., Schramm M., Adams S.M., Muller E.F. 1997. Induction of heat shock proteins, changes in liver ultrastructure and alterations of fish behaviour: Are these biomarkers related and are they useful to reflect the state of pollution in the field? ***Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery***, 6: 57-73.

Uribe, M.C. 2009. Spermatogenesis and male reproductive system. Urodela. Editör: Ogielska, M. Reproduction of Amphibians. 100-124. No. 3. Science Publishers, Inc Enfield.

Uribe, M.C., Grier, J., Mejía-Roa, V. 2014. Comparative testicular structure and spermatogenesis in bony fishes. ***Spermatogenesis***, 4(3): 1-13.

Üner, N., Özcan Oruc, E., Sevgiler, Y., Şahin, N., Durmaz, H., Usta, D. 2006. Effects of Diazinon on acetylcholinesterase activity and lipid peroxidation in the brain of *Oreochromis niloticus*. ***Environmental Toxicology and Pharmacology***, 21: 241–245.

van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. ***Environmental Toxicology and Pharmacology,*** 13: 57-149.

van der Weiden, M.E.J., Craane, L.H.J., Evers, E.H.G., Kooke, R.M.M., Olie, K., Seinen, W., van der Berg, M. 1989. Bioavailability of PCDDs and PCDFs from bottom sediments and some associated biological effects in carp (*Cyprinus carpio*). ***Chemosphere,*** 19: 1009-1016.

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

Velmurugan, B. 2011. Identification of potential biomarkers for chlorpyrifos and cypermethrin exposed to fish *Anabas testudineus* (Bloch) using histological, biochemical, haematological, ultrastructural and molecular assays. Doktora Tezi, Madras Üniversitesi Çevresel Bilimler ve Biyoteknoloji Araştırma Bölümü, Chennai, Hindistan.

Venkatrameshven, M., Agnihothrudu, V. 1988. Persistence of Captafol in Soils with and without Amendments and its Effects on Soil Microflora. ***Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology***, 41(4): 548-555.

Verma, S.R., Rani, S., Tonk, I.P., Dalela, R.C. 1983. Pesticide induced dysfunction in carbohydrate metabolism in three freshwater species. ***Environmental Research***, 32: 127-133.

Verreth, J., Storch, V., Segner, H. 1987. A comparative study on the nutritional quality of decapsuled Artemia Cysts, microencapsulated egg diets and enriched dry feeds of *Clarias gariepinus* (Burchell) larvae. ***Aquaculture***, 63: 269-282.

Vethaak, A.D. 1994. The use of mesocosms to study disease in flounder (*Platichthys flesus*). Editörler: Bylund, G. and Lönnström, L.G. Diseases and parasites of flounder (*Platichthys flesus*) in the baltic sea. PP. 121-129. No.15. Baltic Marine Biologist Publication, Turku/Abo.

Vural N. 1996. Toksikoloji, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 342 -363, Ankara.

Vural, N. 1995. Toksikoloji, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No: 73, Ankara.

Wandelaar Bonga, S.E., Lock, R.A.C. 1992. Toxicant and osmoregulation in fish. ***Netherlands Journal of Zoology,*** 42: 317-331.

Waring, C.P., Moore, A. 2004. The effect of Atrazine on atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts in fresh water and after sea water transfer. ***Aquatic Toxicology***, 66: 94-104.

Watts, P., Wilkinson, G.R. 1977. The interaction of carbamates with acetylcholinesterase. ***Biochemical Pharmacology***, 26: 757–761.

Weber, F.H., Rosenberg, F.A. 1984. Interactions of Carbaryl with estuarine bacterial communities. ***Microbial Ecology***, 10: 257–269.

Weinstein, J.E., Oris, J.T., Taylor, D.H. 1997. An ultrastructural examination of the mode of UV-induced toxic action of fluoranthene in fathead minnow *Pimephales promelas*. ***Aquatic Toxicology***, 39: 1-22.

Wester, P.W., Canton, J.H. 1986. Histopathological study of *Oryzias latipes* (Medaka) after long-term hexachlorocyclohexane exposure. ***Aquatic Toxicology***, 9: 21-45.

WHO (World Health Organization). 1990. WHO: Public Health Impact of Pesticides Used in Agriculture, Geneva: World Health Organization.

WHO (World Health Organization). 1992. Our planet, our health: report of the WHO commission on health and environment. World Health Organization, Geneva.

WHO (World Health Organization). 1996. Guidelines for drinking-water quality. 2nd ed. Vol.2. Health criteria and other supporting information. World Health Organization, Geneva.

Wikipedia. 2015a. Erişim: [https://en.wikipedia.org/wiki/Diazinon#/media/File:Diazinon Structural_Formula_V1.svg] Erişim Tarihi: 19.11.2015

Wikipedia. 2015b. Erişim: [https://en.wikipedia.org/wiki/Atrazine#/media/File:AtrazineVector.svg], Erişim Tarihi: 19.11.2015

Wikipedia. 2015c. Erişim: [https://en.wikipedia.org/wiki/Nile_tilapia] Erişim Tarihi: 19.11.2015

Wilson, J.M., Vogl, A.W., Randall, D.J. 2002. Branchial mitochondria-rich cells in the dogfish (*Squalus acanthias*). ***Comparative Biochemistry and Physiology-Part A***, 132: 365–374.

Wolke, R.E., Murchelano, R.A., Diskstein, C., George, C.J. 1985. Preliminary evaluation of the use of macrophage aggregates as fish health monitors**.** ***Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology,*** 35: 222–227.

Wong, M.H., Lau, W.M., Tong, T.Y. Liu, W.K., Lunk, K.C. 1982. Toxic effects of chromic sulphate on the common carp (*Cyprinus caando*). ***Toxicology Letters***, 10: 225-232.

Wood, C.M. 2001. Toxic responses of the gill. Editörler: Schlenk, D. and Benson, W.H. Target Organ Toxicity in Marine and Freshwater Teleosts Organs, 1-89. No. 1. Taylor and Francis, Londra, İngiltere.

Wu, W.Z., Zhou, B.S., Xu, Y., Schramm, K. ve Kettrup, A. 1999. Cytological and biochemical alterations in *Carassius auratus* hepatocytes from exposure to sediment containing dioxins and related compounds. ***Archives of Environmental Contamination and Toxicology***, 37: 358-363.

Xing, H., Li, S., Wang, Z., Gao, X., Xu, S., Wang, X. 2012. Histopathological changes and antioxidant response in brain and kidney of common carp exposed to Atrazine and chlorpyrifos. ***Chemosphere,*** 88: 377–383.

Yıldırım E. 2008. Tarımsal zararlılarla mücadele yöntemleri ve ilaçlar, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi ofset Tesisi, Erzurum, Türkiye.

Yin, D. 1996. Biochemical basis of lipofuscin, ceroid, and age pigment-like fluorophores. ***Free Radical Biology and Medicine***, 21: 871–888.

Zutshi, B. 2005. Ultrastructural studies on the effect of fenthion on pituitary (GTH cells) and testis of *Glossogobious giuris* (Ham) during breeding phase. ***Journal of Environmental Biology***, 26: 31-36.

ÖZGEÇMİŞ

Adı : Pelin

Soyadı : Uğurlu

Doğum Tarihi : 12/08/1983

Doğum yeri : Ankara

Address :Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DUBTAM) TR 21280 Sur/Diyarbakir/Turkey

Telefon Dahili : +90 412 2488320 (Dahili: 3986)

Mobil : +90 507 2600659

E-mail : pelin1356@gmail.com

EĞİTİM

- Yüksek Lisans: Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Tez Başlığı: **Bazı Yeni Nesil İnsektisitlerin *Gammarus kischineffensis* (Schellenberg, 1937) (Crustacea: Amphipoda) Üzerinde Toksik Etkilerinin İncelenmesi** (2007-2009).
- Lisans: Dicle Üniversitesi Ziya Gökalp Eğitim Fakültesi, Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi Bölümü, Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı (2002-2007).

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI İNTİHAL RAPORU FORMU

ÖĞRENCİ BİLGİLERİ	
ADI VE SOYADI	Pelin Uğurlu
ÖĞRENCİ NO	09801602
EĞİTİM – ÖĞRETİM YILI	2016-2017
YARIYIL	☐ Güz ☒ Bahar
ANABİLİM DALI	Biyoloji
PROGRAM	DOKTORA
TEZ KONUSU	Çeşitli Pestisitlerin *Oreochromis niloticus*'da Neden Olduğu Histopatolojik Etkiler ve Bu Etkilerin Işık ve Elektron Mikroskopları İle Değerlendirilmesi
İNTİHAL RAPORU BİLGİLERİ	
RAPOR TÜRÜ	Tez Savunma Sınavı Sonrası
SAYFA SAYISI	185
BENZERLİK ORANI	%6
RAPORLAMA TARİHİ	23/06/ 2017

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın kapak sayfası, giriş, ana bölümler, sonuç ve tartışma kısımlarından oluşan toplam 185 sayfalık kısmına ilişkin, 23/06/2017 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından *Turnitin* adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 6'dır.

Uygulanan filtrelemeler:

☒ Kabul/Onay sayfaları hariç,
☒ Kaynakça hariç
☐ Alıntılar hariç/dâhil
☐ Diğer

Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Programlarda Tez Çalışması İntihal Raporu Uygulama Esaslarını inceledim ve bu Uygulama Esaslarında belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edilmesi durumunda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

Pelin Uğurlu

(İmza)	(İmza)
23/06/ 2017	23/06/ 2017
Prof. Dr. Elif İpek SATAR **Tez Danışmanı**	Prof. Dr. Hasan Çetin ÖZEN **Anabilim Dalı Başkanı**