





Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi

Araştırma Makalesi

2,4 Diklorofenoksi Asetik Asit'in Sazanlarda (*Cyprinus carpio*) Kritik Yüzme Hızı ve Hematoloji Parametreleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması

 Melek TUNA^a  Muhammed ATAMANALP^{a*}

^a Yetiştiricilik Bölümü, Su Ürünleri Fakültesi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum TÜRKİYE

* Sorumlu yazarın e-posta adresi: mataman@atauni.edu.tr

DOI: 10.29130/dubited.899795

ÖZ

2,4-D (Diklorofenoksi Asetik Asit) herbisiti klorlandırılmış fenoksi asit grubuna girmektedir. Halka açık alanlardaki çimlerde ve tarım arazilerinde, yol kenarlarında geniş yapraklı bitkilerle akuatik bitkilerin kontrolünde yaygın tercih edilir. Çok geniş bir yayılım alanı olduğu için insan ve çevre sağlığı açısından tehdit oluşturmaktadır. Bu çalışmada; 2,4-D Diklorofenoksi asetik asit pestisitinin farklı dozlarının (0,35 mg/lit ve 0,70 mg/lit) sazan (*Cyprinus carpio*) balıklarında 7-14 ve 21. günlerde sub-lethal etkileri hematolojik parametreler [hemoglobin (HGB), hematokrit (HCT), eritrosit (RBC), lökosit (WBC), trombosit (PLT), ortalama eritrosit hacmi (MCV), eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı (MCH), eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu (MCHC)] ve yüzme performansı analizleri ile araştırılmıştır. Hematolojik parametrelerden lökosit, trombosit, MCV ve MCHC değerleri için doz, zaman ve doz x zaman etkileşim etkileri önemli olarak belirlenmiş ($p < 0,05$) diğer parametreler için de ana varyasyon kaynaklarının etkileri önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Kritik yüzme hızı sonuçları değerlendirildiğinde ise kontrol ve uygulama grupları arasında değişimlerin olduğu ancak bu değişimlerin önemsiz olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$).

Anahtar Kelimeler: 2,4-D Diklorofenoksi asetik asit, Hematoloji, Kritik yüzme hızı

Investigation the Effects of 2,4 Dichlorophenoxyacetic acid on Critical Swimming Speed and Hematological Parameters of Carp (*Cyprinus carpio*)

ABSTRACT

2,4-D (Dichlorophenoxy Acetic Acid) herbicide belongs to the chlorinated phenoxy acid group. It is widely preferred for the control of aquatic plants, on public lawns, agricultural lands and the broad-leaved plants along roadsides. It poses threats to human and environmental health as it is a very wide spreading area. In this study; sub-lethal effects of 2,4-D dichlorophenoxy acetic acid pesticide different doses (0.35 mg / L and 0.70 mg / L) on the 7-14 and 21 days in carp (*Cyprinus carpio*) hematological parameters (hemoglobin (HGB), hematocrit (HCT), erythrocyte (RBC), leukocyte (WBC), platelet (PLT), mean erythrocyte volume (MCV), mean hemoglobin per erythrocyte (MCH), mean hemoglobin concentration per erythrocyte (MCHC)] and swimming performance were investigated. For leukocyte, thrombocyte, MCV and MCHC values among hematological parameters, dose, time and dose x time interaction effects were determined to be significant ($p < 0.05$). The effects of main variation sources were found to be significant among other parameters ($p < 0.05$). When the critical swimming speed results were evaluated, it was determined that there were changes between the control and application groups, but these changes were insignificant ($p < 0.05$).

Keywords: 2,4-D Dichlorophenoxy acetic acid, Hematology, Critical swimming speed,

I. GİRİŞ

Pestisitler zararlı organizmaları yok etmek, popülasyonları kontrol altında tutmak veya zararlı etkilerini en aza indirmek için yaygın olarak kullanılan kimyasallardır. Bu kimyasallar her ne kadar zararlı organizmalarla mücadele etmek amacıyla üretilmiş olsalar da başta toprak ve su olmak üzere bütün ortamlarda etkilerini hissettirmektedirler. İnsanoğlu her geçen gün artan nüfusun etkisiyle ihtiyaç duyulan gıda gereksinimlerini karşılayabilmek adına yeni tarım arazilerini açmakta ve zararlı organizmalarla mücadele ederek üretimde verimi artırmaya çalışmaktadır. Fakat bunu yaparken hem çevreye hem de kendisine zarar vermektedir. Çevreye bırakılan bütün kimyasal maddeler doğrudan veya dolaylı yollarla ekosistemlere ve insanlara ulaşmaktadır [1].

Pestisit–balık etkileşimli çalışmalar, pestisitlerin balık davranışları ve fizyolojisi hakkında değerlendirme yapılmasının yanı sıra, halk sağlığı, tarım ve çevre üzerindeki etkisinin bilimsel değerlendirmesini kolaylaştırmaktadır. Bu nedenle, pestisitlerin tatlı su sistemlerine kullanımını ve olası sızmasını kontrol etmek için düzenleyici ve bilinçlendirme araçlarına ihtiyaç vardır. Bu tür çabalar, öngörülebilir gelecek için bu ve diğer bölgelerdeki insanlar için bir gıda olarak balık kalitesini korumamıza yardımcı olabilir.

2,4-D zirai ve zirai olmayan alanlarda kullanılan bir herbisit olup ülkemizde de kullanılmaktadır. Tüm dünyada 300 milyon doları aşan ve büyük bir pazara sahip olduğu bildirilmiştir [2]. Halka açık alanlardaki çimlerde ve tarım arazilerinde, yol kenarlarında geniş yapraklı bitkilerle akuatik bitkilerin kontrolünde oldukça tercih edilir. Çok geniş bir yayılım alanı olduğu için insan ve çevre sağlığı açısından tehdit oluşturmaktadır [3].

Davranış değişiklikleri potansiyel toksik etkilerin en hassas göstergeleridir. Kirleticiler sinir sistemi ve duyu reseptörleri ile etkileşime girerek balıkların davranış biçimlerini etkileyebilir ve sonuç olarak balığın çevresel uyaranlara verdiği tepkilerde bozukluklara yol açabilir. Yüzme performansı ekolojik çevrede pek çok balık türünün hayatta kalabilmesini sağlayan önemli faktörlerden biridir. Yüzme performansı biyolojik ve fizyolojik faktörlerin çeşitliliğine bağlıdır. Türün özelliği, diğer bir deyişle vücut şekli, yüzgeç biçimi, kas fonksiyonu, yüzme modu ve balık büyüklüğü yüzme performansında etkilidir. Çevresel faktörler ise pH, oksijen, fotoperiyot ve çeşitli kirleticiler olarak belirlenmiştir [4].

Balıklar ve diğer akuatik canlılar için yüzme performansının ölçümünde kullanılan en yaygın metot kritik yüzme hızıdır. Kritik yüzme hızı balığın yüzme kabiliyetini belirlemek için standart bir ölçüdür (Plaut 2001). Bu metotta balık bir su tüneline yerleştirilir ve farklı hızlardaki su akışına karşı yüzme kabiliyeti değerlendirilir. Balıkların genellikle opto-motordan dolayı akıntıya karşı pozisyonlarını korumaları gereklidir. Kritik yüzme performansı değerlerinin toksikolojik çalışmalarda LD50 değerleri ile karşılaştırılabildiği için bu konuda bilgi temin ettiği ifade edilmiştir. Kritik yüzme hızı testleri yapılarak, kronik maruz kalma sonucunda balıklarda oluşan subletal etkilerin ölçülebildiği ve kirletilmiş habitat ortamı ile ilgili doğru bilgilerin sağlandığı bildirilmiştir [5].

Kirleticiler balığın yüzme kabiliyetini azaltarak mekanizmasının farklılaşmasına neden olmaktadır. Farklı maddelere maruz kalma sonucunda solungaçlar zarar gördüğünden dolayı solunum değişimi engellenmekte ve oksijen alımı ve dolayısıyla kritik yüzme hızı azalmaktadır. Kronik maruz kalma durumunda detoksifikasyon ve zararların giderilmesinde daha fazla metabolik aktiviteye ihtiyaç duyulmaktadır. Kronik maruz kalma sonucunda sinir fonksiyonlarında değişimler ortaya çıkabilmektedir. Kirleticilere maruz kalan balığın karbonhidrat depoları azalacağından maksimum yüzme hızında da önemli bir şekilde azalma görülmektedir [6].

Balıklarda spesifik olmayan tepki fiziksel, kimyasal ve algılanan stres etkeni ile uyandırılmakta ve balığın stres etkeni ile başa çıkmasını sağlamaktadır. Hücresel tepkileri davranış, kimyasal stres ve daha yüksek biyolojik organizasyon düzeyleri ile ilişkilendirmek önemlidir. Davranış, içsel ve dışsal işlemlerin bir sonucu olduğundan, bu tür parametrelerdeki değişiklikler, kirleticilere maruz kalan doğal popülasyonların sağlığını anlamaya yardımcı olmaktadır [7].

Hematolojik parametreler toksik maddenin mekanizmasını anlamak için temel belirteçlerdir. Hematolojik ve klinik kimya parametreleri hızlı bir şekilde belirlenebilir ve kirleticilerin toksisitesini tahmin ve teşhis edebilmek için kullanılabilir. Bu parametrelerdeki değişimler stres etkenine maruz kalan canlıların kan ve kanla bağlantılı organlarında stresin kantitatif ölçümünü göstermektedir [8].

Balıklarda kan indekslerinin analizi, metabolik bozukluklar, eksiklikler ve kronik stres durumu hakkında güvenilir bilgi sağlayan ve balığın sağlık durumunu belirlemek için değerli bir yaklaşımdır [9]. Hematolojik profil, balıkların fizyolojik durumunu ve sağlığını gösterebilir. Böylece diğer rutin teşhis yöntemleri ile birlikte kullanılan hematoloji, strese neden olan koşulları ve refah düzeyini etkileyen hastalıkları belirlemek ve değerlendirmek için kullanılabilir.

Bu çalışmada, kirleticilerin sucul canlılarda neden olduğu olumsuz etkiler kapsamında 2,4 diklorofenoksi asetik asit'in sazanlarda (*Cyprinus carpio*) kritik yüzme hızı ve hematoloji parametrelerindeki değişimlerin ortaya konulması hedeflenmiştir.

II. MATERYAL VE METOD

A. DENEME DİZAYNI

Kimyasal uygulaması, Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akvaryum Balıkları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde bulunan Toksikoloji Deneme Ünitesi'nde yapılmıştır. Laboratuvar analizleri ise Su Ürünleri Fakültesi laboratuvarlarında yürütülmüştür.

B. DENEME MATERYALİ

90 adet sazan balığı (6,2±0,3 cm boy ve 9,5±0,7 gr), Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İçsu Balıkları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Çalışmada kullanılan diklorofenoksi asetik asit ticari bir firmadan (Akdeniz Kimya, Erzurum, Türkiye) temin edilmiştir. Etkili maddesi; 500 g/l 2,4-D aside eşdeğer 2,4 diklorofenoksi asetik asit dimethyl amin tuzudur.

C. KİMYASAL UYGULAMASI

Balıklar aklımasyon periyodundan sonra kronik olarak pestisit 2 farklı konsantrasyonuna (0,35 mg/l ve diğerine 0,70 mg/l) 21 gün boyunca maruz bırakılmıştır. Deneme, 2 uygulama 1 kontrol olmak üzere 3 gruptan oluşmuştur. Kimyasalın uygulanan konsantrasyonları ön demeler sonucunda elde edilen veriler doğrultusunda belirlenmiştir.

D. KRİTİK YÜZME HIZI ÖLÇÜMÜ

Balıklar 21 gün sonunda buldukları ortam ile aynı su kalitesine sahip olan yüzme performansı ünitesinde kritik yüzme hızlarının ölçümü için yüzdürme tüneline alınmıştır. Yüzme performansı ölçüm sistemi, çevre uzunluğu 14,65 cm olan kenarları yuvarlatılmış tank sistemi ile içerisinde 1 m boy ve 40 cm çapında yüzdürme kabini bulunan bir tünelden ibarettir. Su sıcaklığı sistem tarafından doğrudan, debi ölçümleri ise muline cihazı (pemsantaş 9001-54) ile ölçülmüştür.

Kritik yüzme hızı aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır [10].

$$U_{crit} = U_i + (T_i / T_{ii}) U_{ii}$$

U_{crit} =Kritik yüzme hızı (cm/sn veya bl/sn)

U_i = Belirlenen zaman aralığının tamamında sürdürülebilir hız (cm/sn)

U_{ii} =Balığın yorgun düştüğü hız (cm/sn)

T_i =Balığın yorgun düştüğü hızda yüzebildiği süre (sn)

T_{ii} =Kritik yüzme hızı için belirlenen süre (30 dk)

E. HEMATOLOJİ ANALİZLERİ

Balıkların kan örnekleri, anüs yüzgecinin hemen arka kısmından, kana mukoza karışmaması için iyice kurulanıp temizlendikten sonra 10 ml'lik 21 numara iğneli plastik enjektörle kaudal venadan girilerek yaklaşık 4 ml civarında alındı. Kan parametreleri analizleri sazan balığına kalibre edilmiş Prokan PE 6800 isimli otoanalizör cihazında okunmuştur.

F. İSTATİSTİK ANALİZLER

Mevcut araştırmadan elde edilen veriler SPSS yazılımı ile analiz edilmiştir. Duncan tarafından test edilen gruplar arasındaki farklılıklar ve önem düzeyleri $p < 0.05$ aşamasında belirlenmiştir.

III. ARAŞTIRMA BULGULARI

A. KRİTİK YÜZME HIZI

2,4- Diklorofenoksi Asetik Asit'in iki farklı dozuna maruz bırakılan sazan balıklarında kritik yüzme hızına ait sonuçlar değerlendirildiğinde kontrol grubuna göre değişimler olmasına rağmen istatistik açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$) (Tablo 1).

Tablo 1. 2,4-D Diklorofenoksi Asetik Asitin Cyprinus carpio 'nun kritik yüzme hızı (bl/sn) üzerine etkisi

Grup	Ucrit (bl/sn)
0,35 mg/lit (D1)	2,47±0,144 ^a
0,70 mg/lit (D2)	2,55±0,570 ^a
Kontrol	2,43±0,178 ^a

* a: Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiki olarak fark yoktur.

B. HEMATOLOJİ İNDEKSLERİ

Araştırmada hematoloji parametreleri olarak; hemoglobin miktarı (HGB), eritrosit sayısı (RBC), eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı (MCH), eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), ortalama eritrosit hacmi (MVC), lökosit sayısı (WBC), trombosit sayısı (PLT), hemotokrit sayısı (HCT) çalışılmıştır. Söz konusu parametrelere ait bulgular Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. 2.4-D Diklorofenoksi Asetik Asitin *Cyprinus carpio* 'nun hematoloji indeksleri üzerine etkisi

Hematoloji İndexleri	Grup Gün	Kontrol	0,35 mg/lit (D1)	0,70 mg/lit (D2)
Hemoglobin (HGB) (g/100ml)	7	9,367±0,931 ^a	9,170±0,721 ^a	7,033±0,760 ^a
	14	7,475±0,988 ^b	15,600±0,884 ^a	13,430±0,884 ^a
	21	16,167±1,234 ^a	16,411±1,007 ^a	13,500±0,956 ^a
Hemotokrit (HCT)	7	8,200±0,714 ^a	7,150±0,553 ^{ab}	5,656±0,583 ^b
	14	6,200±0,739 ^b	11,990±0,661 ^a	10,340±0,661 ^a
	21	12,267±0,869 ^a	12,333±0,710 ^a	9,970±0,673 ^b
MCH (pg)	7	69,400±2,895 ^a	68,520±2,242 ^a	65,800±2,364 ^a
	14	68,000±0,853 ^a	68,160±0,763 ^a	68,330±0,763 ^a
	21	70,773±0,965 ^a	70,156±0,788 ^a	69,050±0,747 ^a
MCHC (g/ml)	7	116,233±4,691 ^a	128,460±3,634 ^a	120,989±3,830 ^a
	14	120,950±1,437 ^b	129,890±1,286 ^a	129,570±1,286 ^a
	21	131,733±1,464 ^a	132,878±1,196 ^a	134,710±1,134 ^a
MCV (µm ³)	7	60,333±1,116 ^a	53,710±0,865 ^b	55,100±0,911 ^b
	14	56,600±0,721 ^a	52,770±0,645 ^b	53,070±0,645 ^b
	21	54,033±0,828 ^a	53,100±0,676 ^b	51,600±0,641 ^b
Eritrosit (RBC) (10 ⁶ /mm ³)	7	1,342±0,139 ^a	1,349±0,107 ^a	1,047±0,113 ^a
	14	1,098±0,139 ^b	2,256±0,125 ^a	1,965±0,125 ^a
	21	2,283±0,167 ^a	2,336±0,136 ^a	1,942±0,129 ^a
Lökosit (WBC) (10 ⁴ /mm ³)	7	3,000±0,437 ^a	2,680±0,338 ^a	1,767±0,356 ^a
	14	1,875±0,604 ^b	6,710±0,540 ^a	5,120±0,540 ^a
	21	6,767±0,721 ^{ab}	6,811±0,588 ^a	5,250±0,558 ^a
Trombosit (PLT) (10 ³ /mm ³)	7	127,667±15,239 ^a	117,800±11,804 ^{ab}	86,111±12,443 ^b
	14	64,250±13,192 ^b	145,400±11,799 ^a	143,900±11,799 ^a
	21	142,000±14,849 ^a	164,444±12,124 ^a	139,500±11,502 ^a

a, b, Aynı harfle gösterilen grup ortalamaları arasında istatistiki olarak fark yoktur (p<0.05)

IV. TARTIŞMA ve SONUÇ

A. KRİTİK YÜZME HIZI

Önemli değerlerden biri olan kritik yüzme hızı için tespit edilen kriterler toksikolojik çalışmalarda LC₅₀ değerleri ile mukayese edildiğinden dolayı yapılan çalışmada söz konusu parametre ele alınmıştır. Farklı dozların uygulandığı sazan balıklarında (*C. carpio*) kritik yüzme hızı değerleri bakımından kontrol ve uygulama grupları arasında meydana gelen farklar grup içinde önemsiz, gruplar arasında önemli bulunmuştur (p<0,05). Kritik yüzme hızı ile ilgili ortalama değerler: kontrol grubu için 2,47±0,14 bl/sn, D1 grubu için 2,55±0,57 bl/sn, D2 grubu için 2,43±0,17 bl/sn olarak tespit edilmiştir.

Brett ve Glosal [11], *Oncorhynchus nerka* larda kritik yüzme hızının 3,3±4,4 bl/sn, Peterson [12] *Salvelinus fontinalis* balıklarında kritik yüzme hızının 4,63±4,86 bl/sn aralığında değiştiğini bildirmişlerdir.

Asetoklar ve glifosat kimyasallarının sub-letal dozlarının uygulandığı gökkuşağı alabalığında (*O. mykiss*) kritik yüzme hızı değerlerinin gruplar arasındaki farkları istatistikî açıdan önemli bulunmuştur. Pestisitlere maruz bırakılan balıkların ortalama yüzme sürelerinin, kontrol grubundaki balıklara nazaran uzun olduğunu rapor etmiştir [10].

Yaptığımız çalışmada sazan balıkları (*C. carpio*) kirleticilerin etkisine maruz bırakıldığında yüzme performansına etkisinin önemsiz olduğu belirlenmiştir. Farklı çalışmalar ile kıyaslandığında bu değişimin araştırmalarda kullanılan balıkların vücut şekli, kas fonksiyonu, yüzgeç biçimi, yüzme

metodu ve balığın büyüklüğünden kaynaklandığı, yüzme performansı üzerinde oksijen, pH, tuzluluk, sıcaklık ve kirleticilerinde fazlaca önemli olduğu belirlenmiştir.

Yeğin [13], bakır sülfat pentahidrat'ın iki farklı dozuna maruz kalan gökkuşuğu alabalığında (*O. mykiss*) kritik yüzme hızı değerleri bakımından gruplar arasındaki farkın önemli olduğunu bulmuştur. Kritik yüzme hızı ile ilgili ortalama değerleri: K grubu için $3,550 \pm 1,62$ bl/sn, D1 grubu için $3,74 \pm 2,03$ bl/sn ve D2 grubu için $5,06 \pm 0,34$ bl/sn olarak tespit etmiştir.

Esenbuğa [14], SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) nin iki farklı dozuna maruz kalan gökkuşuğu alabalığında (*O. mykiss*), incelenen kritik yüzme hızı değerleri bakımından gruplar arasında oluşan farkı önemli bulmuştur. Çalışmaya ait parametrelerin ortalama değerleri: K grubu için $4,93 \pm 0,50$ bl/sn, D1 grubu için $2,43 \pm 0,81$ bl/sn ve D2 grubu için $1,09 \pm 0,47$ bl/sn olarak belirlemiştir.

Sucul ekosisteme ulaşan kimyasallar su ile tepkimeye girerek kimyasal kirliliğe neden olmaktadır. Sucul ortamda meydana gelen kimyasal kirlilik sonucu balıkların yüzme performansında azalmalara, ani hareketlere ve solunum frekanslarını artırmaya neden olabilmektedir [15].

Sonuçlarımıza benzer olarak yapılan başka bir çalışmada bakırın sub-letal dozlarının uygulandığı gökkuşuğu alabalığı (*O. mykiss*) ve sazangillerde (*C. carpio*) yüzme performansının araştırıldığı çalışmada sazangillerin (*C. carpio*) bakır kimyasalına karşı alabalıklardan (*O. mykiss*) daha dirençli olduğu tespit edilmiştir [16].

Sucul ekosisteme karışan kimyasallar balıkların maksimum yüzme performansında azalmalara neden olmaktadır. Pestisitlere kısa süreli maruz bırakılan balıkların solungaçları zarar gördüğünden dolayı solunum alış verişini engellediği ve kritik yüzme hızını etkilediği, kronik maruziyet sonucunda sinirsel bozukluklar meydana geldiği rapor edilmiştir [17].

B. HEMATOLOJİ PARAMETRELERİ

Sucul ekosistemde yaşamını sürdüren canlıların toksik etkiye sahip materyallerle etkileşimi sonucunda organ ve dokularda kimyasal birikimine neden olmakta, etkileşiminin sürekli olduğu durumlarda ise moleküler düzeyde kalıcı hasarların oluşmasına ortam hazırlamaktadır [14].

Balıklarda toksik etkiye sahip kimyasallar gastrointestinal ve solungaç sistemi ile vücuda temas ettikten sonra kan aracılığı ile doku ve organlara taşındığından dolayı ilk önce kan hücreleri ve eritropoietik dokularda yapısal ve işlevsel hasarlara neden olduğu rapor edilmiştir [18].

Sazan balığında (*C. carpio*) kimyasalın farklı doz ve sinerjik etkisinin belirlenmesine yönelik yaptığımız çalışmada hemotokrit sayısı, hemoglobin %'si, lökosit sayısı, trombosit sayısı, eritrosit sayısı, ortalama eritrosit hacmi, eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu gibi kan değerleri belirlenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde araştırılan değerlerde, kimyasal dozu ve zamana bağlı artış ve azalışlar gözlemlenmiştir.

Canlıların hayati fonksiyonlarını sürdürebilmek için ihtiyaç duydukları oksijen, bazı durumlarda yüksek toksik etkiye sahip serbest radikallere dönüşebilmektedir. Serbest radikaller, dış halkalarında en az bir eşleşmemiş elektron bulunan, kısa ömürlü reaktif atom, molekül veya iyonlar olarak tanımlanabilir. Serbest radikaller mutasyon, kanser, biyolojik yaşlanma ve hücrel hasarlara neden olabilirler [19]. Balıklarda serbest radikallerin oluşumunda çevre kirliliği, ağır metaller ve pestisitler büyük ölçüde rol oynamaktadırlar [20]. Ayrıca çevre kirliliği, ağır metaller ve pestisitler sucul organizmalarda biyokimyasal ve fizyolojik parametrelere girişimde bulunmakla birlikte balıklar üzerinde toksik etkiye neden olarak balık sağlığının ve fizyolojik durumlarının kontrolünde kullanılmakla beraber balık hastalıklarının teşhisinde önem arz etmektedir.

Hemoglobin; vücuda oksijeni taşımakla görevli bir solunum pigmentidir. Hemoglobinin bir diğer görevi de hücrelerdeki karbondioksiti alıp, solungaçlara geri götürmektir [21],[22]. 24-D Diklorofenoksi asetik

asit uygulaması sonucunda hemoglobin değerinde kontrol grubunda 7-14. günler arasında azalma belirlenmiş, 21. günde ise artış kaydedilmiştir. Çalışmada düşük dozun ve yüksek dozun kontrole göre farklı günlerdeki hemoglobin miktarına etkisi değerlendirildiğinde, her iki doz 7-14-21. günlerinde hemoglobini artırmıştır. Hemoglobin değerindeki azalmalar pestisitte yer alan zararlı etki sebebiyle hücrelerin yıkımı ile alakalıdır. Hemoglobin ve hematokrit değerindeki azalma anemi varlığını göstermektedir. Hemoglobin seviyesindeki artış bir çeşit adaptasyon olarak görülmektedir. Hemoglobin seviyesindeki artışa neden olan başka bir faktör ozmoregülasyon dengesinin bozulması, kan akışkanlığı ve hipoksinin azalmasıdır [23].

Hematokrit sayısı, kırmızı kan hücrelerinden oluşan kanın hacimce oranıdır. Ayrıca kanın oksijen taşıma kapasitesini yansıması bakımından oldukça önemli bir parametredir [24]. Hematokrit yüzdesi, hemoglobin miktarı ve eritrosit sayısının yanı sıra eritrosit indeksinin de bir parametresidir [10]. Çalışmamızda, hematokrit bakımından yapılan varyans analizi sonucunda en yüksek hematokrit miktarı düşük dozun 21. gününde %12,333 belirlenirken, en az yüksek dozun 7. gününde %5,656 olarak belirlenmiştir.

O. niloticus' ta hematokrit düzeyinde meydana gelen azalmaların kan dokusunda yer alan su hacminin artmasının bir sonucu olabileceği, kirletici etkisinde hematokrit düzeyindeki azalmanın ozmoregülasyondaki bozukluğa bağlı hemodilüsyondan, eritrositlerin ozmotik hemolizinden veya demir metabolizmasını etkileyerek hemoglobin sentezindeki bozukluktan kaynaklanabileceği bildirilmiştir [24],[25].

Balıklarda eritrositler, böbrek ve dalakta şekillenerek dokulardan solungaçlara CO₂ ve solungaçlardan dokulara oksijen taşımaktadırlar [26]. Kimyasal uygulaması sonrasında kontrol grubuna göre en yüksek eritrosit sayısı 21. gün en düşük değer ise 14. günde tespit edilmiştir. Muamele grupları değerlendirildiği zaman en yüksek değer düşük dozun 14. gününde belirlenirken en düşük değer ise yüksek dozun 7. gününde belirlenmiştir. Çalışmamıza benzer olarak gökkuşuğu alabalığında (*O. mykiss*) 2,4-D Diklorofenoksi asetik asit pestisitinin farklı doz ve zamanlarda uygulanan eritrosit düzeyine etkisi çalışılmıştır. Yapılan çalışma sonunda zaman düzeyinin eritrosit sıralaması: Kontrol grubunda 48.saat >24.saat >96.saat >0.saat, D1 grubunda 96.saat >24.saat >48.saat >0.saat ve D2 grubunda 48.saat >24.saat >96.saat >0.saat olarak bildirilmiştir [27].

Akut stres ortamında bulunan balıklarda, fizyolojik sistemin gereği olarak dalak sürekli kasılarak eritrosit üretiminin artışı teşvik edeceğinden eritrosit sayısında artış meydana gelebilir. Daha sonraki periyotlarda yeterli sayıda eritrosit oluşumunun gerçekleşmemesi bu sistemin zarar gördüğü anlamına gelmektedir [28].

Lökosit değerine bakıldığında, zaman seviyelerinin önem sırası kontrol grubunda 7 >21 > 14, D ve Y grubunda ise 21 >14 >7 olarak bulunmuştur (Tablo 2). Doz seviyesi D >K >Y olarak belirlenmektedir. Trichlorfon kimyasalının sub-letal dozlarına maruz bırakılan sazan balıklarında (*C. carpio*) bazı hematolojik değerler araştırılmıştır. Trichlorfonun sazan balıklarında (*C. carpio*) hematokrit sayısı (HCT), hemoglobin miktarı (HGB) ve lökosit sayılarında (WBC) kontrol grubuna nazaran düşüşler meydana geldiğini rapor etmiştir [26].

Balıkların lökosit miktarında gözlemlenen farklılıkların nedeni bağışıklık sisteminin baskı altına alınması ve hastalıklara karşı duyarlılıklarının artmasıdır. Lökosit sayısındaki artış, kirleticilere maruz kalan balığın hayatta kalabilmesine ve fizyolojik durumun bütünlüğünü koruyabilmesine yardımcı olan antikorların artışıyla paralellik göstermektedir [29].

Trombosit, kanama sırasında kanın pıhtılaşmasını sağlayan hücre parçalarıdır. Trombosit oranının düşük olması kanamaya yatkınlaştırırken, yüksek seviyelerdeki trombosit oranı da damarlarda ki kanın pıhtılaşmasını hızlandırmaktadır. Çalışmamızda 7. gün yüksek doz grubunda azalma gözlemlenmiştir. Kan hücrelerindeki oksijen miktarının azalması ve dalakta meydana gelen olumsuz faktörler trombosit eksikliğinden kaynaklanabilir. Çalışmamıza benzer olarak trombosit değerinin (PLT) stresten önemli

derecede etkilendiği ve gökkuşuğu alabalıklarında (*O. mykiss*) stresten önce $2,1 \times 10^4/\text{mm}^3$ olarak tespit edilen bu değerin stresten sonra $4,3 \times 10^4/\text{mm}^3$ 'e arttığını açıklamıştır [30].

MCV ortalama eritrosit hacmidir. Yaptığımız çalışma sonucunda, MCV olarak doz uygulamaları arasında en yüksek parametre 7. gün kontrol grubundan elde edilmiştir. Hematoloji parametrelerinde, çevresel değişikliklere bağlı olarak farklılıklar oluşabilir, balığın kanında bulunan eritrosit hacmindeki değişiklikler balıkların doku ve organlarında hasarlara yol açtığı bilinen bir gerçektir.

Gökkuşuğu alabalığında (*O. mykiss*) iki farklı kimyasalın karşılaştırılmasına yönelik yapılan çalışmada bazı kan parametre değerleri belirlenmiştir. Çalışma sonucunda trombosit sayısı (PLT) ve ortalama eritrosit hacmi (MCV) değerleri istatistik açıdan önemli olduğunu belirtmiştir [10].

MCH, eritrosit başına düşen ortalama hemoglobinin miktarıdır. Çalışmamızda, MCH bakımından zaman ve doz faktörlerinin değerleri önemli bulunmuştur. MCH düzeyi kontrol grubunda 69,400-70,733 pg arasında bulunmaktadır. Düşük doz grubunda 21. gün hariç diğer günlerde azalırken yüksek doz grubunda 14. günde azalırken 7 ve 21. günlerde artışlar tespit edilmiştir.

Atamanalp vd. [31], lambda-cyhalothrin'in dere alabalığı (*Salmo trutta fario*) yaptıkları çalışmada; eritrosit sayısı (RBC), hematokrit sayısı (HCT), ortalama eritrosit hacmi (MCV) ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobinin miktarı (MCH) gibi parametrelerde kimyasala maruz kalan gruplarda azalış olduğunu, lökosit sayısı (WBC), trombosit sayısı (PLT) ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobinin konsantrasyonu (MCHC) parametrelerinde ise artış olduğunu rapor etmişlerdir.

Kimyasallar sucül ekosistemde yaşayan canlıların biyokimyasal ve fizyolojik parametrelerini etkilemekte ayrıca balık sağlığını tehdit etmektedir [20]. MCHC, eritrosit başına düşen ortalama hemoglobinin konsantrasyonudur. Herbisit uygulamaları sonucunda, en yüksek değer yüksek doz grubunda 21. gün 134,710 g/dL olarak belirlenirken en düşük değer kontrol grubunda 7. gün 116,233 g/dL olarak belirlenmiştir.

Atamanalp ve Yanık [32], mancozebin kimyasalının sub-letal dozuna maruz bırakılan gökkuşuğu alabalığı (*O. mykiss*) üzerinde bazı kan parametre değerleri incelenmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde kullanılan kimyasalın eritrosit başına düşen ortalama hemoglobinin miktarı (MCH), eritrosit başına düşen ortalama hemoglobinin konsantrasyonu (MCHC) ve ortalama eritrosit hacminde (MCV) azalışların meydana geldiğini rapor etmişlerdir.

Çelik vd [33], farklı türdeki balıklar ile kan parametre değerleri üzerine yapılan araştırmada; kimyasalların, stresin, su kalitesi kriterlerinin ve çevresel faktörlerin balıklardaki fizyolojik fonsiyonları etkilendiğini, elde edilen sonuçlara göre kan parametrelerinin minimum ve maksimum değerleri; eritrosit sayısı (RBC), $0,128-4,005 \times 10^6/\text{mm}^3$, lökosit sayısı (WBC), $1,435571-107,000 \times 10^3/\text{mm}^3$, hemoglobinin değeri (HGB), $1,300-16,000 \text{ g}100\text{ml}^{-1}$, hematokrit oranı (HCT), %4,800-58,800 ortalama eritrosit hacmi (MCV), $31,600-894,940 \mu\text{m}^3$, eritrosit başına düşen ortalama hemoglobinin miktarı (MCH), $17,300-406,250 \mu\text{g}/\text{hücre}$ ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobinin konsantrasyonu (MCHC), $8,700-65,000 \text{ g}100\text{ml}^{-1}$ olduğunu bildirmişlerdir. Yaptığımız çalışmada bulduğumuz parametrelerin, literatürdeki bilinen değerlerden farklılık göstermesi, araştırmada kullanılan balıkların türleri, yaşları, cinsiyetleri ve ortam koşullarının farklı olmasından kaynaklanabilir.

V. KAYNAKLAR

[1] Z. Hansoy, "Bir herbisit olan 2,4-D (Diklorofenoksi asetik asit)'nin *Poecilia reticulata* (Teleostei, poeciliidae)'da testis dokusu üzerine etkisinin araştırılması," Yüksek Lisans tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye, 2010.

- [2] EPA. (2021, May 5). *Health Effects Div. Toxicology Disciplinary Chapter for the Reregistration Eligibility Decision Document* [Online]. Available: <http://docket.epa.gov/edkpub/do/EDKStaffItemDetailView?objectId=090007d4802c9067>.
- [3] EPA. (2021, May 5). Reregistration Eligibility Decision for 2,4 [Online]. Available: https://ethw.org/Category:Environment?gclid=CjwKCAjwjZmTBhB4EiwAynRmD-6LQBefdFPMbJgUMcMgfTmu4d2xI_WDm4JP5Plgymo2mZbMpFun2BoCpKsQAvD_BwE
- [4] C. Wolter and R. Arlinghaus, "Navigation impacts on freshwater fish assemblages: the ecological relevance of swimming performance," *Rev. Fish Biol. Fish*, vol. 13, pp. 63–89, March, 2003.
- [5] C. Hammer, "Fatigue and exercise tests with fish," *Comp. Biochem. Physiol*, vol. 112, pp. 1–20, 1995.
- [6] A. Ucar, M. Atamanalp, E.M. Kocaman, G. Alak, A. Topal, O. Fakioglu, V. Parlak, and T. Yanik, "Effects of dietary bentonite on improvements in hematology and enzyme in copper exposed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)," *J. Appl. Phys.* vol. 5, no. 2, pp. 67-72, June, 2019.
- [7] M. Sharma, "Behavioural responses in effect to chemical stress in fish: A Review," *Int. J. Fish. Aquat. Stud*, vol. 7, no. 1, pp. 01-05, Jan, 2019.
- [8] M. Banaee, "Physiological dysfunction in fish after insecticides exposure, insecticides exposure," Insecticides, London, UK: IntechOpen, 2013.
- [9] M. Bahmani, K. Rezvan and P. Donskaya. "A comparative study of some hematological features in young reared sturgeons (*Acipenser persicus and Huso huso*)," *Fish Physiol. Biochem*, vol. 24, no. 2, pp. 135-140, Feb, 2001.
- [10] H. Arslan, "Pestisit sinerjisinin; gökkuşağı alabalıklarında (*oncorhynchus mykiss*) yüzme performansı, biyokimyasal hematolojik, histopatolojik ve genotoksik etkilerinin araştırılması," Doktora tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye, 2015.
- [12] J. R. Brett, and N. R. Glosal, "Metabolic rates and critical swimming speeds of sockeye salmon, *oncorhynchus nerka*, in relation to size and temperature," *J Fish Res Board Can*, vol. 30, pp. 379- 387, March, 1973.
- [13] R. H. Peterson, "Influence of fenitrothion on swimming velocities of brook trout (*Salvelinus fontinalis*)," *J. Fish Res Board Can*, vol. 31, pp. 1757–1762, Nov, 1974.
- [14] Y. Yeğin, "Farklı dozlarda uygulanan bakır sülfat pentahidrat'ın gökkuşağı alabalığı (*oncorhynchus mykiss*)'nin kritik yüzme hızı ve hematoloji parametreleri üzerine etkilerinin araştırılması," Yüksek Lisans tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye, 2013.
- [15] H. Esenbuğa, "SDS (Sodium dodecyl sulphate)'nin farklı dozlarının gökkuşağı alabalığının (*o. mykiss*) yüzme performansı, hematoloji parametreleri ve bazı antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkileri," Yüksek Lisans tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye, 2013.
- [16] M. Ural, H. Yüksel, M. Sarıeyyüpoğlu ve A. Ulucan, "Düşük pH'lı suların aynalı sazanlar (*Cyprinus carpio* L. 1758) üzerindeki klinik ve patolojik etkileri," *Kocatepe Vet. J*, vol. 2, no. 1, pp. 19-22, March, 2009.
- [17] G. D. Boeck, K. Van der Ven, J. Hattink, R. "Blust, swimming performance and energy metabolism of rainbow trout, common carp and gibel carp respond differently to sublethal copper exposure," *Aquat. Toxicol*, vol. 80, no.1, pp. 92–100, Oct, 2006.

- [18] A.G. Heath, *Water Pollution and Fish Physiology*, 2nd ed., Florida, USA: CRC Press Inc., 1995.
- [19] M. Witeska, and I. Baka, "The effect of long term cadmium exposure on common carp blood," *Fresenius Environm. Bulletin*, vol. 11, no. 12A, pp. 1059-1065, 2002.
- [20] E. Büyükgüzel, "Biochemical and molecular mechanisms of protein," *Karaelmas Sci. Eng. J.*, vol. 3, no. 1, pp. 40-51, 2013.
- [21] Ş. Gökpınar, T. Koray, E. Akçiçek, T. Göksan, Y. Durmaz, "Algal Antioxidants," *Ege J Fish Aqua Sci*, vol. 23(Suppl 1/1), pp. 85-89, Sep, 2006.
- [22] B. Berkarda ve H. Eyüpoğlu, *Hematoloji Laboratuar Yöntemleri*, Türkiye: Ar Yayım ve Dağıtım. 1983.
- [23] M. Atamanalp, "Farklı yetiştirme sistemlerinin (Havuz ve Kafes) gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) hemoglobini, hematokrit ve sediment seviyeleri üzerine etkileri," *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, c. 20, s. 1-2, ss. 81-86, Dec, 2003.
- [24] C.S. Jawale, L.B. Dama, "hematological changes in the fresh water fish, *Cyprinus carpio* exposed to sub-lethal concentration of piscicidal compounds from cestrum species," *National Journal of Life Sci*, vol. 7, no. 1, pp. 81-84, Jan, 2010.
- [25] M. Witeska, "Stress in fish hematological and immunological effects of heavy metals," *Electronic Journal of Ichthyology*, vol. 1, pp. 35-41, Jan, 2005.
- [26] S. Duran, "Bakır (Cu), Çinko (Zn), Kadmiyum (Cd) ve karışımlarının *Oreochromis niloticus*'ta bazı hemotolojik parametreler üzerine etkileri," Yüksek Lisans tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çukurova Üniversitesi, Adana, Türkiye, 2011.
- [27] A. Pala, "Trichlorfon uygulanan pullu sazan (*Cyprinus carpio*)'da asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktivitesi ve bazı kan parametrelerinin araştırılması," Yüksek Lisans tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çukurova Üniversitesi, Adana, Türkiye, 2013.
- [28] N. F. Karadaş, "2,4-D Diklorofenoksi asetik asit herbisitine maruz bırakılan gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) bazı hematolojik ve biyokimyasal değişimlerin belirlenmesi," Yüksek Lisans tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye, 2016.
- [29] V. Parlak, "Gökkuşağı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) akut ve kronik alfa sipermetrin uygulamalarının hematotoksik, hepatotoksik ve nefrotoksik etkilerinin araştırılması," Doktora tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye, 2016.
- [30] S.O. Ayoola, "Acute toxicity and histopathology of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings exposed to aqueous and ethanolic extracts of *Euphorbia poissonii* leaves," *New Clues Sci.*, vol. 1, pp. 55-68, Jan, 2011.
- [31] M. Atamanalp, "Bir sentetik piretroit insektisitinin (Cypermethrin) subletal dozlarının gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'na histopatolojik, hematolojik ve biyokimyasal etkileri," Doktora tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye, 2000.
- [32] M. Atamanalp, E. Aksakal, E. M. Kocaman, A. Uçar, T. Şişman ve H. Türkez, "Kobalt klorite maruz kalan gökkuşağı (*O. mykiss*)'nın kan parametrelerindeki değişimler," *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, c. 17, ss. 573-576, Mart, 2011.

[33] M. Atamanalp and T. Yanık, "Alterations in hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to mancozeb," *Turk J. Vet. Anim. Sci*, vol. 27, pp. 1213-1217, Jan, 2003.

[34] E.Ş. Çelik, M. Akbulut, S. Sağır Odabaşı, D. Anıl Odabaşı, "Farklı tür balıklarda hematolojik indekslerin referans değerleri," *Anadolu University Journal of Science and Technology*, c. 7, s. 2, ss. 277-293, 2006.