

Bir Dezenfektanın (Malahit Yeşili) Subletal Dozlarının Gökkuşığı Alabalığı (Oncorhynchus mykiss) Kan Parametreleri Üzerine Etkileri

The Effects of Sublethal Doses a Disinfectant (*Malachite Green*) on Blood Parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Muhammed ATAMANALP

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü, 25240, Erzurum-TÜRKİYE
mataman@atauni.edu.tr

Abdulkadir BAYIR

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü, 25240, Erzurum-TÜRKİYE
abyir@atauni.edu.tr

A. Necdet SİRKECİOĞLU

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü, 25240, Erzurum-TÜRKİYE
nsirkecioglu@hotmail.com

Mehtap CENGİZ

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü, 25240, Erzurum-TÜRKİYE
mehtapcengiz@hotmail.com

ÖZET

Bu araştırmada, su ürünleri yetiştiriciliğinde dezenfektan olarak yaygın bir şekilde kullanılan malahit yeşilinin farklı dozlarının gökkuşığı alabalığı (Oncorhynchus mykiss)nin hematolojik parametreleri üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. 0,1 ve 0,05 mg/lit dozlarının denendiği araştırmada; hematokrit değerlerinde kontrol grubuna göre azalma, eritrosit-sedimentasyon oranında artış, hemoglobin miktarında ise dozlara göre farklı tepkiler belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Gökkuşığı Alabalığı, Malahit Yeşili, Hematokrit, Hemoglobin, Eritrosit-Sedimentasyon Oranı

ABSTRACT

This research was conducted to determine the effects of malachite green (a common disinfectant in aquaculture) on hematological parameters of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). The doses 0.1 and 0.05 mg/l of dye decreased haematocrit values, also, increased erythrocyte – sedimentation rate. Hemoglobin values showed different results according to doses.

Key Words: Rainbow trout, Malachite green, Haematocrit, Haemoglobin, Erythrocyte-sedimentation rate

1. Giriş

Malahit yeşilinin orijinal kullanım alanı tekstil ürünlerinin boyanması olup, akuakültürde ektoparazitik, fungusit ve antiseptik amaçlarla kullanılmasına 1933 yılında başlanmıştır (Bergwerff ve Scherpenisse, 2003). Balıklar ve yumurtalarında funguslarla mücadelede, balıklarda protozoa ve bakteriyel enfeksiyonlarda kullanılmasının yanında yine balıklar için aşırı toksik bir kimyasaldır (Boyd, 1992). Malahit yeşili organik bir boya olup çok düşük dozlarda bile yüksek derecede fungusit özelliği ile 50 yılı aşkın zamandır yaygın olarak kullanılmaktadır (Brown, 1993).

Triarilmethan boyası (Malahit yeşili) güçlü antifungal, antibakteriyel ve antiparazitik ajan olarak balık çiftliklerinde yaygın olarak kullanılması yanında etkili bir tropik antiprotozoal dezenfektandır (Sirivastava ve ark., 1995).

Bu kimyasal maddenin orijinleri ve kalitesinde önemli farklılıklar bulunmaktadır. Dolayısıyla farklı araştırmacıların yaptıkları araştırmalarda gerek konsantrasyonlarda gerekse maruz bırakma süreleri arasında önemli varyasyonlar bulunmaktadır (Brown, 1993).

Malahit yeşili bütün hastalıklara karşı kullanılabiliyorsa da en fazla mantari hastalık hâllerinde baş vurulmaktadır (Arda, 1975; Aras ve ark., 1995). Geniş fungusidal ve anti-parazitikal spektrumu yanında alabalıklarda proliferative böbrek hastalığına karşı

etkinliği bu ilâcı balık üreticileri için son derece popüler hâle getirmiştir (Bergwerff ve Scherpenisse, 2003).

Meyer ve Jorgensen (Meyer ve Jorgensen, 1983) malahit yeşiline maruz bırakılmış yumurtalardan çıkan alabalık frylarında omurga, baş, yüzgeç ve kuyruk anormallikleri olduğunu ortaya koymuştur. Bunun yanı sıra; bu boya gıda zincirine girebilmekte ve insanlarda kanserojenik, mutajenik ve teratojenik olumsuzluklara neden olmaktadır (Klein ve ark., 1995).

Bergwerff ve Scherpenisse (2003)'e göre malahit yeşili kedi balığı, salmon, gökkuşağı alabalığı, kalkan, yılan balığı ve karideslerde birikim yapmaktadır. Bu nedenlerden dolayıdır ki; ABD'de 1978 yılında kontrol altına alınmış ve sınırlı kullanımına izin verilmiştir.

Balıkların hematolojik parametreleri balık yetiştiriciliğinde balıkların fiziksel durumlarının belirlenmesinde, stres ve hastalıkların kontrolünde her geçen gün daha yaygın olarak kullanılan indikatörlerdir (Aldrin ve ark., 1982). Balıklarda hematolojik parametreler çevre şartlarındaki değişikliklere kısa sürede cevap verdiği için dolayı toksikolojik çalışmalarda yaygınlaşarak faydalanılmaktadır. Bu parametreler organizmanın klinik statüsü hakkında önemli bilgiler sağlamaktadır (Bridges ve ark., 1976; Sharma ve Gupta, 1994).

2. Materyal ve Yöntem

Araştırmada balık materyali olarak; Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü Alabalık Üretim ve Araştırma Merkezinden temin edilen ve ortalama ağırlıkları 135 ± 25 g olan balıklardan 24 adet kullanılmıştır. Balıklar denemeye alınmadan önce kontrolleri yapılmış ve herhangi bir enfeksiyon ya da fiziksel zararlanma bulunmadığına kanaat getirilen bireyler adaptasyona alınmıştır. Araştırma adı geçen bölümün Akvaryum Balıkları Üretim ve Araştırma Merkezinde 10 Şubat - 10 Mart 2003 tarihleri arasında yürütülmüştür. 360 l su hacmi bulunan fiberglas tanklarda 8'er adet balık stoklanmış ve tanklara kg balığa 0,6 l/dak oranında su girişi sağlanmıştır.

Araştırma süresince tanklardaki su sıcaklığı $9,0 \pm 0,5$ °C olarak ölçülmüş ve yem materyali olarak ticarî alabalık yemi kullanılmıştır.

Balıklar 14 günlük bir adaptasyon periyodundan sonra denemeye alınmış 14 gün boyunca malahit yeşilinin 2 subletal dozuna maruz bırakılmışlardır. Adaptasyon süresince balıklarda stres, hastalık ve ölüm takibi yapılmış problem olduğu gözlenen 1 balık deneme dışı bırakılmıştır. Deneme; 2 uygulama 1 kontrol olmak üzere 3 gruptan oluşmuştur. Uygulanacak malahit yeşili miktarı belirlenirken Srivastava ve arkadaşlarının (1995) bildirdiği $LC50_{96\text{saat}}$ değerlerinden yararlanılmış ve tanklardan birine bu dozun 1/10'u diğerine ise 1/20'si uygulanmıştır. Su hacmi belirlenmiş olan tanklara ortamı yenilenen deneyler prosedürüne (Ünsal, 1998) göre 24 saatte bir bu dozu oluşturacak konsantrasyonlar verilmiştir. Gerek ortamın yenilenmesi süresince gerekse yemleme, sifon vb. işlemler esnasında deneklerin strese girmemesine ve zarar görmemesine özen gösterilmiştir.

Deneme periyodu sonucunda gruptaki balıkların tümünden kan örnekleme yapılmıştır. Kan örneklerinin alınmasında 10 ml kapasiteli ve 21 numara iğneli plâstik enjektörler (Clarence ve Hickey, 1982; Val ve ark., 1998), alınan kanların muhafazasında ise vakumlu ve heparinli kan tüpleri kullanılmıştır (Pottinger ve Carrick, 1999; Atamanalp ve ark.,2002a). Trombositlerin cama yapışma afinitesinin yüksek olması ve kanın pıhtılaşmasını hızlandırdığından dolayı cam enjektörler yerine plastik enjektörler kullanılmıştır (Atamanalp ve ark., 2002a; Satake ve ark., 1986; Hughes ve Hebert, 1991).

Kan örnekleri, balıkların anüs yüzgecinin hemen arka kısmından, kana mukoza karışmaması amacıyla, iyice kurulanıp temizlendikten sonra enjektörle kaudal venadan girilerek 2 – 2,5 ml civarında alınmıştır (Val ve ark., 1998). Heparinli vacutaineer tüplere alınan kanlar Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü Hematoloji Lâboratuvarında incelenmiştir.

Hemoglobin miktarının tayini için asit hematin metodunu esas alan sahli cihazı kullanılmıştır. Sahli tüpünün 2 çizgisine kadar %5'lik HCl solüsyonu koyulmuştur. Sahli

pipetinin 0,02 ml çizgisine kadar alınan kan örneği bu solusyon içerisine eklenerek sahlinin cam karıştırma çubuğuyla homojenize edilmiş, sahli düzeneğindeki kontrol renkleri ile karşılaştırılmıştır. Kan örneğinden yapılan bileşik kontrol rengini tutturuncaya kadar yavaş yavaş saf su eklenmiştir. Rengin tuttuğuna kanaat getirilince bulunan değer tüp üzerindeki ölçekten okunarak g/100 ml cinsinden kaydedilmiştir (Satake ve ark., 1986; Kocabatmaz ve Ekingen, 1977; Kocabatmaz ve Ekingen, 1984; Malla ve Bashamoiden, 1989; Atamanalp ve Bayır, 2003; Atamanalp ve ark., 2003).

Hematokrit tayininde mikrohematokrit metodu uygulanmıştır. Bu metoda göre kan mikrohematokrit tüplerine alındıktan sonra tüpün bir ucu cam macunu ile kapatılmıştır. Hematokrit santrifüjüne yerleştirilen tüpler 10500 devirde 5 dakika çevrildikten sonra Hematokrit skalası üzerinde değerler okunmuş ve toplam kanın %'si olarak kaydedilmiştir (Atamanalp ve Bayır, 2003; Blaxhall ve Daisley, 1973).

Eritrosit – sedimentasyon oranının (sedimentasyon miktarı) tespitinde Westergren metodu uygulanmıştır. Mikrohemotokrit tüplerine çekilen antikoagülanlı (heparin) kan örnekleri, sediment sehplarına yerleştirilerek bir saat süreyle bekletilmiştir. Süre sonunda ayrılan serum miktarı pipet üzerindeki skaladan okunmuş, bulunan değer mm/saat cinsinden kaydedilmiştir (Kocabatmaz ve Ekingen, 1984; Blaxhall ve Daisley, 1973).

Malahit yeşilinin balıklarda neden olduğu kalıntı ile kanserojen, mutajenik ve teratojenik olumsuzluklara yol açtığı bilindiğinden (Klein ve ark., 1995) deneme sonunda balık materyalleri yakılarak imha edilmiştir.

SAS (25) paket programının GLM prosedürü ile varyans analizi yapılarak muamele grupları arası farklar istatistiksel olarak test edilmiştir. Ayrıca gruplara ait ortalamalar Anova çoklu karşılaştırma testi ile analiz edilmiştir (Yıldız ve Bircan, 1991).

3. Bulgular ve Tartışma

3. 1. Hematokrit

Ortalama hematokrit miktarları kontrol grubunda %43,0; 0,1mg/lt'nin denendiği A grubunda %27,5 ve 0,05 mg/lt'nin uygulandığı B grubunda ise %32,25 olarak ölçülmüştür (Tablo-1). Bu rakamlardan da anlaşılacağı üzere malahit yeşiline maruz bırakma gökkuşuğu alabalığı hematokrit yüzdelerinde düşüşe neden olmuş, bu düşüş A grubunda (yüksek doz) B grubuna (düşük doz) nazaran daha büyük oranda ortaya çıkmıştır. Bu durum farklı kimyasalların farklı balık türlerinde denendiği Malla ve Bashamohideen (1989); Ahmad ve ark. (1995); Shakoori ve ark. (1996); Kumar ve ark. (1999) ve Atamanalp ve ark. (2002b) literatürleri ile paralellik göstermiştir. Şöyle ki; Malla ve Bashamohideen (1989) Fenvalarate'nin *Cyprinus carpio*'da hematokriti $25,44 \pm 1,67$ 'den $16,57 \pm 1,48$ 'e; Ahmad ve ark. (1995) bir sentetik piretroit olan Danitol (Fenprothrin)un Çin ot sazani (*Ctenopharyngodon idella*)nda hematokriti önemli ölçüde düşürdüğünü; Shakoori ve ark. (1996) bir başka sentetik piretroitin (Fenvalarate) Çin ot sazani (*C. idella*)nda $17,6 \pm 0,4$ 'den $15,7 \pm 3,9$ 'a ve son olarak Atamanalp ve ark. (2002b) Cypermethrin'in gökkuşuğu alabalığında kontrol grubunda %44,67 olan hematokrit seviyesini %35,13'e düşürdüğünü belirlemişlerdir.

Araştırma sonuçları; Shakoori ve ark. (1991) Çin ot sazani (*C. idella*)nda civa kloridin subletal dozlarının hematokriti $16,79 \pm 0,64$ 'den, $16,98$ 'e ve Aziz ve ark. (1993) *Tilapia mossambica*'da ise $46,55 \pm 7,25$ 'den $54,13 \pm 5,86$ 'ya yükselttiğini rapor ettikleri çalışmalarla uyum göstermemiştir. Bu durum kullanılan balık türleri ve kimyasalların farklı olması ile açıklanabilir.

Yapılan istatistikî analizler sonucunda kontrol grubu ile uygulama grupları arasındaki farkların çok önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0,01$).

3. 2. Hemogloblin

Hemogloblin parametresine ait ortalamalar; kontrol grubunda 6,90 g/100 ml, A grubunda 5,61 g/100 ml ve B grubunda ise 8,36 g/100 ml şeklinde bulunmuştur

(Tablo-1). Kontrol grubu için bulunan değer Kocabatmaz ve Ekingen (1984)'in sağlıklı gökkuşuğu alabalıkları için bildirdiği aralıkta (min 4,3, max 10,9 ve ortalama 6,5 g/100 ml) yer almaktadır. Hemoglobinin değeri yüksek dozun uygulandığı grupta kontrol grubuna göre düşük bulunurken, B grubunda (düşük doz) kontrol grubundan daha yüksek değer ortaya çıkmıştır. Gerek kontrol ile uygulama arasındaki farklar gerekse de uygulama gruplarının kendi aralarındaki farklar çok önemli olarak ortaya çıkmıştır ($P<0,01$).

Bazı araştırmacılar kimyasala maruz bırakmanın balıklarda hemoglobinin miktarını yükselttiğini rapor etmişlerdir. Örneğin; Shakoori ve ark. (1991) Çin ot sazani (*C. idella*)nda civa kloridin subletal dozlarının hemoglobinin miktarını $4,38 \pm 0,21$ g/100 ml'den $4,56 \pm 0,898$ g/100 ml'ye, Aziz ve ark. (1993) *T. mossambica*'da kadmiyum kloridin $9,80 \pm 1,17$ g/100 ml'den, $10,32 \pm 0,07$ g/100 ml'ye, Shakoori ve ark. (1996) Çin ot sazani (*C. idella*)nda Fenvalerate'nin $4,33 \pm 0,18$ g/100 ml'den, $5,0 \pm 0,15$ g/100 ml'ye ve Atamanalp ve ark. (2002b) Cypermethrin'in gökkuşuğu alabalığında $6,87 \pm 0,90$ g/100 ml'den $10,48 \pm 0,56$ g/100 ml'ye yükselttiğini bildirmişlerdir.

Bazı araştırmacılar ise, aksine kimyasalların hemoglobinin miktarını düşürdüğünü bildirmişlerdir: Malla ve Bashamohideen (1989) *C. carpio*'da Fenvalerate'nin hemoglobini $8,07 \pm 0,86$ g/100 ml'den, $3,70 \pm 0,46$ g/100 ml'ye ve Cypermethrin'in $8,37 \pm 0,82$ g/100 ml'den, $4,04 \pm 0,51$ g/100 ml'ye, Ahmad ve ark. (1995) Çin ot sazani (*C. idella*)nda Danitol (Fenprothrin)in hemoglobinin miktarını %28 düşürdüğünü, Kumar ve ark. (1999) ise tatlı su kedi balığı (*Heteropneustes fossilis*)nda Deltamethrin'in $14,5 \pm 2,5$ g/100 ml'den $13,5 \pm 2,8$ g/100 ml'ye düşürdüğünü bildirmişlerdir.

3. 3. Eritrosit-Sedimentasyon Oranı (ESR)

Kontrol grubunda 0,80 mm/saat olarak bulunan eritrosit-sedimentasyon oranı (sedimentasyon miktarı) yüksek doza maruz bırakılan A grubunda önemli ölçüde yükselmiş ve 2,91 mm/saat olarak ölçülmüştür. Düşük malahit yeşil dozunun

uygulandığı B grubu ise kontrol grubu ile A grubu arasında bir değer vermiştir (1,85 mm/saat) (Tablo-1).

Tablo-1. Araştırmaya ait genel sonuçlar ve istatistiki analiz sonuçları

	n	Hematokrit** ± S. Hata	Hemoglobin** ± S. Hata	Sedimentasyon* ± S. Hata
Kontrol	8	43,00±1,15 ^a	6,90±0,11 ^a	0,80±0,69 ^a
A Grubu	8	27,50±0,84 ^b	5,61±0,23 ^b	2,91±0,69 ^b
B Grubu	8	32,25±4,40 ^b	8,36±0,63 ^c	1,85±0,69 ^b

** Çok Önemli

* Önemli

Bu sonuç tatlı su kedi balığı (*H. fossilis*)nda Deltamethrin'in eritrosit sedimentasyon hızını $6,0 \pm 2,0$ mm/saat'ten $8,5 \pm 1,8$ mm/saat'e çıkardığını bildiren Kumar ve ark. (1999) ve Cypermethrin'in gökkuşağı alabalığında $0,33$ mm/saat'ten $1,50$ mm/saat'e yükselttiğini rapor eden Atamanalp ve ark. (2002b) ile uyum göstermektedir.

Kocabatmaz ve Ekingen (1984) balıklarda enfeksiyon varlığı ile ESR'nin yükseldiğini bildirmişlerdir. Blaxhall ve Daisley (1973) ise akut enfeksiyonlar, böbrek deformasyonları ve ağır metal zehirlenmeleri gibi durumlarda ESR değerinin arttığını belirlemişlerdir. Dolayısıyla araştırmamızda kimyasal uygulaması ile sediment seviyesinin yükselmesi bu literatürlerle de paralellik göstermektedir. ESR'deki artış doza bağlı olarak ortaya çıkmıştır.

Yapılan istatistikî analizler sonucunda kontrol grubu ile uygulama grupları arasındaki farkların önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$).

Kaynaklar

- Ahmad, F., Ali, S.S. and Shakoori, A.R., "Sublethal effects of Danitol (Fenprothrin), a synthetic pyrethroid, on freshwater Chinese grass carp, *Ctenopharyngodon idella*", *Folia. Biol. (Krakow)*, 43: 151-159 (1995).
- Aldrin, J.F., Messenger, J.L. and Laurencin, F.B., "La Biochimie Clinique en Aquaculture. Interet et Perspective", *CNEXO Actes Colloq.*, 14: 291-326 (1982).
- Aras, M.S., Bircan, R. ve Aras, N.M., "Genel Su Ürünleri ve Balık Üretimi Esasları", *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ders Yay.*, No:173, Erzurum, 167-169 (1995).
- Arda, M., "Balıklarda Bakteriyel, Mantar, Viral ve Ekolojik Nedenlerden İleri Gelen Hastalıklar ve Tedavileri", *Ankara Üniv. Vet. Fak. Yay.*, No: 300, Ankara, 230-231 (1975).
- Atamanalp, M. ve Bayır, A., "Bazı balıklarda hematolojik parametre standartları", *Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, (Baskıda) (2003).
- Atamanalp, M., Bayır, A., Sirkecioğlu, A.N., Yanık, T. ve Yılmaz, M., "Farklı yemlerle beslemenin gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)' nda hematokrit ve hemoglobin miktarı üzerine etkileri", *Ata. Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, (Baskıda) (2003).
- Atamanalp, M., Keleş, M.S., Haliloğlu, H.İ. ve Aras, M.S., "The effects of cypermethrin (A synthetic pyrethroid) on some biochemical parameters (Ca, P, Na and TP) of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)", *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 26: 1157-1160 (2002a).
- Atamanalp, M., Yanık, T., Haliloğlu, H.İ. ve Aras, M.S., "Alterations in the hematological parameters of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, exposed to cypermethrin", *The Israeli J. of Aquaculture – Bamidgeh.*, 54(2): 99-103 (2002b).
- Aziz, F., Amin, M. and Shakoori, A.R., "Toxic effects of cadmium chloride on the haematology of fish, *Tilapia mossambica*" *Proc.Pakistan Congr. Zool.*, 13: 141-154 (1993).
- Bergwerff, A.A. and Scherpenisse, P., "Determination of residues of malachite green in aquatic animals", *J. of Chromatography.*, (Basımda) (2003).
- Blaxhall, P.C. and Daisley, K.W., "Routine haematological methods for use with fish blood", *J. Fish Biol.*, 5: 771-781 (1973).
- Boyd, C.E., "Water Quality Management For Pond Fish Culture", *Elsevier*, 280-281 (1992).

- Bridges, D.W., Cech, J.J. and Petro, D.N., "Seasonal hematological changes in winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*" *Trans. Am. Fish. Soc.*, 5: 596-600 (1976).
- Brown, L., "Aquaculture for Veterinarians, Fish Husbandry and Medicine", *Pergamon Press*, 243-244 (1993).
- Clarence, R. and Hickey, JR., "Comparative hematology of wild and captive cunners", *The American Fisheries Society*, 111: 242-249 (1982).
- Hughes, J.B. and Hebert, A.T., "Erythrocyte Micronuclei in winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*); Result of field surveys during 1980-1988 from Virginia to Nova Scotia and in Long Island Sound", *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 20: 474-479 (1991).
- Klein, E., Edelhauser, M. and Lippold, R., "Occurrence and determination of residues of malachite green and Leuco-malachite green in edible fish", *Dtsch. Lebensm. Rdsch.*, 87(11): 350-352 (1995).
- Kocabatmaz, M. and Ekingen, G., "Preliminary investigations on some haematological norms in five freshwater fish species", *Fırat Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 4(1-2): 28-40 (1977).
- Kocabatmaz, M. ve Ekingen, G., "Değişik tür balıklarda kan örneği alınması ve hematolojik metotların standardizasyonu", *Doğa Bilim Derg.*, 8(2): 149-159 (1984).
- Kumar, S., Lata, S. and Gopal, K., "Deltamethrin induced physiplogical changes in freshwater Cat fish *Heteropneustes fossilis*" *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 62: 254-258 (1999).
- Malla Reddy, P.M. and Bashamoiden, M.D., "Fenvalarate and Cypermethrin induced changes in the haematological parameters of *Cyprinus carpio*", *Acta. Hydrochim. Hydrobiol.*, 17(1): 101-107 (1989).
- Meyer, F.P., and Jorgensen, T.A., "Teratological and other effects of malachite green on development of rainbow trout and rabbit", *Trans. Am. Fish. Soc.*, 112: 818-821 (1983).
- Pottinger, T.G. and Carrick, T.R., "A comparison of plasma glucose and plasma cortisol as selection markers for high and low stress-responsiveness in female rainbow trout", *Aquaculture*, 175: 351-363 (1999).
- SAS, "SAS Introductory guide", 3 rd End., Cary, NC., USA, (1996).
- Satake, T., Lopes, R.A. and Leme Dos Santos, H.S., "Haematological study of Brazilian fish, III, blood parameters in armored catfish *Hypostomus paulinus* ihering 1905 (Pisces, Loricariidae)", *Ars Veterinaria*, 2(2): 179-183 (1986).
- Shakoori, A.R., Iqbal, M.J., Mughal, A.L. and Ali, S.S., "Drastic biochemical changes following 48 hours of exposure of Chinese grass carp *Ctenopharyngodon*

- idella*, tosublethal doses of mercuric chloride”, *Proc 1. Symp. Fish & Fisheries, Pakistan*, 81-98 (1991).
- Shakoori, A.R., Mughal, A.L. and Iqbal, M.J., “Effects of sublethal doses of fenvalerate (a synthetic pyrethroid) administered continuously for four weeks on the blood, liver and muscles of a freshwater fish, *Ctenopharyngodon idella*”, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 57: 487-494 (1996).
- Sharma, J.P. and V.K. Gupta, “Morphological and haematological alterations in urea exposed fish, *Puntius sophore*” *Curr. Agric.*, 18: 45-48 (1994).
- Srivastava, S.J., Singh, N.D., Srivastava, A.K. and Sinha, R., ”Acute toxicity of malachite green and its effects on certain blood parameters of a catfish, *Heteropneustes fossilis*”, *Aquatic Toxicology*, 31: 241-247 (1995).
- Ünsal, M., “Kirlilik Deneyleri, Yöntemler ve Sonuçların Değerlendirilmesi”, *Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Bodrum Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Yay. No: 11*. 10-12 (1998).
- Val, A.L., De Menezes, G.C. and Wood, C.M., “Red blood cell adrenergic responses in amazonian teleost”, *J. Fish Biol.*, 52: 83-93 (1998).
- Yıldız, N. ve Bircan, H., “Araştırma ve Deneme Metotları”, *Atatürk Üni. Yayınları, No: 697, Ziraat Fak. No: 30, Ders Kitapları Serisi No: 57*, Erzurum, 70-78 (1991).