



**ENDOKRİN BOZUCU KİRLETİCİLERİN BAZI EKONOMİK
BALIK TÜRLERİNDE GONAD HİSTOPATOLOJİSİNE VE
VİTELLOGENİNLERİNE ETKİLERİ**

Göktuğ GÜL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE BİLİMLERİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

TEMMUZ 2014

Göktuğ GÜL tarafından hazırlanan “ENDOKRİN BOZUCU KİRLETİCİLERİN BAZI EKONOMİK BALIK TÜRLERİNDE GONAD HİSTOPATOLOJİSİNE VE VİTELLOGENİNLERİNE ETKİLERİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Çevre Bilimleri Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. A. Çağlan Karasu BENLİ

Çevre Bilimleri, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu Onaylıyorum

.....

Başkan : Prof. Dr. Ahmet Altındağ

Fen-Edebiyat Fakültesi, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu Onaylıyorum

.....

Üye : Doç. Dr. Meltem YILMAZ

Çevre Bilimleri, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu Onaylıyorum

.....

Tez Savunma Tarihi: 10/7/2014

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Prof. Dr. Şeref SAĞIROĞLU

Fen Bilimleri Enstitüsü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

.....
Göktuğ GÜL

10/7/2014

ENDOKRİN BOZUCU KİRLETİCİLERİN BAZI EKONOMİK BALIK TÜRLERİNDE GONAD HİSTOPATOLOJİSİNE VE VİTELLOGENİNLERİNE ETKİLERİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Göktuğ GÜL

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Temmuz 2014

ÖZET

Bu çalışma, Ankara'nın güneyinde bulunan, şehir için önemli balıkçılık ve rekreasyon alanı olan Mogan Gölü'nde balıkların üreme dönemine rastlayan 2013 yılı Ocak-Mayıs ayları arasında yapılmıştır. Mogan Gölü'nde su kalite parametreleri sıcaklık, pH, çözünmüş oksijen, basınç, elektriksel iletkenlik, toplam çözünmüş katı madde, salinite, alkanite, brom, bakır, çinko, demir, flor, fosfat, kalsiyum, klor, krom, magnezyum, mangan, nitrit, nitrat, nikel, potasyum, sülfat ve toplam sertlik ölçülmüştür. Aynı zamanda gölden ekonomik öneme sahip *Cyprinus carpio*, *Carassius carassius*, *Tinca tinca* ve *Esox lucius* türleri avlanmıştır. Bu avlanan türlerden kan örneği alınarak hematokrit seviyeleri saptanmış ve periferik eritrosit mikronükleus testi ile genotoksik etki incelenmiştir. Ayrıca kan plazmasında elektroforetik olarak vitellogenin proteini varlığına bakılmıştır. Aynı türlerden diseksiyon ile gonad, solungaç, kas, böbrek ve periton doku örnekleri histolojik olarak incelenmiştir. Hematokrit düzeyleri *C. carpio*'da %29,94, *C. carassius*'ta %23,67, *T. tinca*'da %26,56 ve *E. lucius*'ta %32,98 tespit edilmiştir. Eritrosit mikronükleus değerleri *C. carpio*'da $1,7475 \pm 0,3813$, *C. carassius*'da $2,223 \pm 0,1857$, *T. tinca*'da $3,335 \pm 0,1934$ ve *E. lucius*'da $1,402 \pm 0,1094$ olarak belirlenmiştir. Elektroforetik vitellogenin deneyi sonucunda vitellogenin proteini yalnız üreme dönemindeki dişilerde değil, erkek bireylerde de saptanmıştır. Histopatolojik inceleme sonucunda ise balıklarda solungaçlarda bronşitis, hiperemi, epitelial ayrılma, füzyon; karaciğerde hidropik dejenerasyon ve pasif hiperemi; böbreklerde hemoraji; ovaryumlarda ooforitis, bazal membran ayrılması; testislerde dejenerasyon, siyonitik atrofitis, boşalma; peritonda peritonit görülmüştür. Göl ortamındaki çeşitli kirleticilerin yarattığı etkilerin incelenmesinde bu çalışmada kullanılan testlerin iyi birer biyobelirteç olduğu ve sonuçlarının da birbirini destekler nitelikte olduğu saptanmıştır.

Bilim Kodu : 903

Anahtar Kelimeler : Mogan Gölü, ekotoksikoloji, histopatoloji, mikronükleus, hematokrit, vitellogenin, elektroforez, SDS-Page

Sayfa Adedi : 70

Danışman : Doç. Dr. A. Çağlan Karasu BENLİ

INVESTIGATION ON GONAD HISTOPATHOLOGY AND VITELLOGENINS OF
ENDOCRINE DISRUPTORS ON ECONOMICALLY IMPORTANT FISH SPECIES

(M. Sc. Thesis)

Göktuğ GÜL

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

July 2014

ABSTRACT

This study was carried out in Mogan Lake, during the breeding period of fish species between January and May 2013. Mogan Lake is an important recreational and fishing area, situated at the South of Ankara. The water quality parameters of: temperature, pH, dissolved oxygen, conductivity, total dissolved solids, salinity, alkalinity, bromine, copper, zinc, iron, fluoride, phosphate, calcium, chloride, chromium, magnesium, manganese, nitrite, nitrate, nickel, potassium, sulphate and total hardness were analyzed at Mogan Lake. At the same time the economic fish species *Cyprinus carpio*, *Carassius carassius*, *Tinca tinca* and *Esox lucius* were captured. Blood were sampled for the determination of hematocrit (%) levels. Genotoxic effects were investigated by using the micronucleus test. VTG protein presence were also studied by the SDS-Page electrophoresis method. Gonad, gill, muscle, kidney, liver and peritonium tissues were examined histologically. Hematocrit levels were determined as 29.94%, 23.67%, 26.56%, 32.98% on *C. carpio*, *C. carassius*, *T. tinca* and *E. lucius*, respectively. Erythrocyte micronucleus test results showed $1,7475 \pm 0,3813$ on *C. carpio*, $2,223 \pm 0,1857$ on *C. carassius*, $3,335 \pm 0,1934$ on *T. tinca* and $1,402 \pm 0,1094$ on *E. lucius*. Electrophoretic mobility of VTG proteins were not only determined in females but also in males during the breeding period. After histological examination; branchitis, hyperemia, epithelial lifting and fusion on the secondary lamella of gill tissues, hydropic degeneration and passive hyperemia on liver tissues, hemorrhage on kidney tissues, oophoritis and separation of the basal membrane on ovarium tissues, degeneration of testis tissue, peritonitis on peritonium on the intestine. The biological assay tests employed in this study showed them to be good bioindicators on investigation of impacts on water systems and the results of the tests were further supported by each other.

Science Code : 903

Key Words : Mogan Lake, ecotoxicology, histopathology, micronucleus, hematocrit, vitellogenins, electrophoresis, SDS-Page

Page Number : 70

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. A. Çağlan Karasu BENLİ

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresinde tecrübelerinden ve bilgilerinden yararlandığım, her zaman arkamda durarak çalışma azmi veren danışmanım Doç. Dr. A. Çağlan Karasu BENLİ'ye, bilgi ve tecrübelerini bana aktarmak için olağanüstü çaba harcayan Prof. Dr. Ali GÜL'e, Prof. Dr. Figen ERKOÇ'a, Prof. Dr. İ. Ayhan ÖZKUL'a, laboratuvar süresince benimle birlikte mesai yapan ve her konuda destek olan Yrd. Doç. Dr. Ömer SAYLAR'a, Yrd. Doç. Dr. Semra Benzer'e, Araş. Gör. Gözde YÜCEL'e, Sezin DÜZEL'e, Gizem ULUSOY'a ve Duygu KODAL'a çalışmalarım sırasında manevi olarak her zaman yanımda olan sevgili eşim M. Çağrı GÜL'e ve kızım Ela GÜL'e sonsuz teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılan simge ve kısaltmalar yanlarında açıklamaları ile aşağıda verilmiştir.

Simgeler	Açıklama
11KT	11-ketotestosteron
AR	Androjen
C	Elektriksel iletkenlik
DEHP	Dietilheksil fitalat
DBP	Dibütil fitalat
DO	Çözünmüş oksijen
EE₂	Etinil östradiol
ER	Östrojen
GnRH	Gonadotropin-rilizing hormon
HPG	Hipotalamik-Pitüiter-Gonadal
HHG	Hipotalamik-hipofiziyer-gonadal
kDa	Kilodalton
Lv	Lipovitellin
µS	Mikrosiemens
Pv	Fosvitin
SDS-PAGE	Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi
T	Testosteron
Zr	Zona radiata
Kısaltmalar	Açıklama
APS	Amonyum persülfat
EDC	Endokrin bozucu kirleticiler
FSH	Folikül stimule edici hormon
FSHR	Folikül stimule edici hormon reseptörü
GSI	Gonadosomatik indeks
LH	Lüteinleştirici hormon

Kısaltmalar**Açıklama****LHR**

Lüteinleştirici hormon reseptörü

MN

Mikronükleus

MFO

Karışık fonksiyonlu oksidazlar

PCB

Poliklorlu bifenil

RIA

Radyoimmün test

SDS

Sodyum dodesil sülfat

TDS

Toplam çözünmüş katı madde

TSE

Türk Standartları Enstitüsü

US EPA

Çevre Koruma Ajansı

VTG

Vitellogenin

WHO

Dünya Sağlık Örgütü

YSKYY

Yüzeysel Su Kalitesi Yönetimi Yönetmeliği

1. GİRİŞ

Toplum ve toplumun yaşamını sürdürdüğü bölge birbirinden ayrılamaz. Bu iki faktör de yaşamın gereği olarak sürekli birbiri ile etkileşim halindedir. İnsanoğlunun yaşamını idame ettirebilmesi için doğadan yararlanması ise kaçınılmazdır (Kocataş, 2012). Fakat teknolojinin hızla gelişmesi ve nüfusun artışı doğal kaynaklar üzerindeki insan baskısını artırarak; üretimin ve tüketimin de büyük bir ivme kazanmasını sağlamıştır. Bu artışlar sonucu ortaya çıkan atık miktarı önemli düzeyde etkilenmiş, doğal kaynakların hızla tükenmesi sürecini hızlandırmıştır.

Doğal rezervlerin tüketimi, nüfus artışı, savaşlar, teknolojik gelişmeler ile kirletilen çevre, iklim değişikliği ve yok edilen ormanlar sonucu, toplum sağlığı ve geleceği üzerinde tehdit oluşturulmuştur (Dokuzuncu Kalkınma Planı, 2006; Vural, 2005).

Teknolojinin hızla gelişmesinin bir sonucu olarak ortaya çıkan çevre kirliliği su kaynaklarımıza zarar vermekte ve balık gibi sucul canlıların doğal üreme ortamları için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır.

Çevre kirliliği; yaşam alanlarını oluşturan havanın, suyun ve toprağın doğal dengelerinin insani faaliyetlerinden ortaya çıkan madde ve enerji atıklarıyla olumsuz yönde bozulması olarak tanımlanır (Karaman, 2005). 1960’larda ivme kazanan sanayi faaliyetleri gelişmekte olan ülkelerin sadece yoğun emek isteyen imalatlar ile sınırlı kalmayıp, aynı zamanda demir-çelik, petro-kimya, gübre, kâğıt gibi kirlilik faktörü yüksek olan alanlara da kaydığı gözlenmiştir. Bunun yanında ülkelerin gelişmişlik seviyesi ile birlikte toplumun çevre duyarlılığı da artmaktadır. Toplumların çevre duyarlılığı, birçok kirlilik yükü ağır sanayi koluna ek maliyetler getirmiştir (Akboştancı, Tunç ve Aşık, 2004). Atıklar önemli bir ekonomik potansiyele sahiptir ve canlı sayısı ile birlikte çevre için büyük sorun olmaktadır (Karaman, 2005). Bu soruna çözüm olarak ağır sanayiler, çevre bilinci daha az olan ve çevre kirliliği alanında yasal yapılanması daha zayıf olduğu bilinen, gelişme sürecindeki ülkelere doğru göçe başlamışlardır. Bu duruma literatürde “kirli sanayi sığınağı hipotezi” denilmektedir (Akboştancı ve diğerleri, 2004).

Ülkemizde hızlı nüfus artışı ve teknolojinin yaşamımızda yerini sürekli artırması tüketim oranımızı artırmaktadır. Doğal bir sonuç olarak ise atık miktarımız da önemli derecede artmaktadır. Bu atıklar dolaylı ya da doğrudan sucul ortamlara kontamine olabilmektedir. Sucul canlılar yaşadıkları ortamdaki birçok değişkene doğrudan maruz kalırlar. Kirlilik etkisi altında kalan sucul canlılar fizyolojik faaliyetlerini değiştirerek bulundukları ortama uyum sağlamaya çalışırlar. Bu değişiklik endokrin yapılarda da görülebilmektedir (Şahan, Altun ve Nevşat, 2009). Günümüzde teknolojinin ilerlemesine paralel olarak genetik alanında da önemli ölçüde gelişmeler yaşanmaktadır. Kullanılan birçok kimyasal maddenin ya da bileşiklerinin sebebiyet verdiği yapısal kromozom anomalilerinin tespiti de genetik biliminin ilerlemesi ile mümkün hale gelmiştir (Schiffmann ve De Boni, 1991; Fennech, 2000).

Araştırmamızda Ankara İli için önemli sucul rekreasyon alanı olan ve içerisinde birçok canlı bulunduran Mogan Gölü seçilmiştir. Mogan Gölü'nün en önemli tehdit unsurları çevresindeki sediment yapının erozyon vasıtası ile göle taşınımı ve etrafındaki tesislerin atıklarının göle direkt kontaminasyonudur. Bunun yanında bölge için önemli bir sorun teşkil eden sivrisinekle mücadelenin bilinçsiz şekilde yapılması ve insektisitlerin kontrolsüzce sulak alana uygulanması da Mogan Gölü'ndeki kirliliğin oluşmasında önemli tehdit unsurlarından birisidir. Bunun yanında gölü besleyen akarsulara deşarj edilen evsel atıklarda kirlilik yükünde üst düzey öneme sahiptir (Fakıoğlu ve Polatsü, 2005). Mogan Gölü birçok akuvatik canlıyı da içerisinde barındırmaktadır. Bu canlılar içerisinde balıklar sucul ortamlardaki kirliliğe direkt maruz kalmaktadırlar. Bölge halkı tarafından bu balıkların bazıları sevilmektedir ve dolayısı ile ekonomik öneme sahiptir. Mogan Gölü'nde bu araştırma kapsamında Sazan (*Cyprinus carpio* L., 1758), Havuz balığı (*Carassius carassius* L., 1758), Kadife (*Tinca tinca* (L., 1758)), Turna (*Esox lucius* L., 1758), İnci balığı (*Alburnus orontis* Sauvage, 1882), Çizgili sazancık (*Pseudorasbora parva* (Temminck & Schlegel, 1846)), Gümüş balığı (*Atherina boyeri* Risso, 1810) türlerinin bulunduğu saptanmıştır. Fakat ekonomik öneme sahip *C. carpio*, *C. carassius*, *T. tinca* ve *E. lucius* türlerinde üreme dönemlerine denk gelen 2013 yılı Ocak-Mayıs ayları arasında hematokrit seviyeleri, periferik eritrosit mikronükleus sayımları, dokularda histolojik bulgular ve kan plazmasında vitellogenin proteini araştırılmıştır.

Elde edilen sonuçlar, gölde antropojenik kirlilik kaynaklarına yani EDC aktiviteli bileşiklere ilişkin ön veri sağlayarak, çalışma yöntemlerinin ekotoksikolojide özellikle saha

alışmalarında iyi biyobelirteçler olduğu saptanmıştır. Çok yönlü değerlendirilen biyobelirteçlerden elde edilen sonuçlar birbirini destekler niteliktedir. Çalışma uluslararası standartlarda yayınlanma potansiyeliyle literatüre katkı sağlayacaktır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Çevresel Kirlilik

Nüfusun, tarım ve sanayi faaliyetlerinin artışına ve teknolojinin gelişmesine paralel olarak artan gıda ihtiyacı, ürün kalitesini ve miktarını artırmayı gerektirmektedir. Bunun bir sonucu olarak hammadde kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Kullanılan hammaddelerin işlenmesi sonucu oluşan çok çeşitli artık ürünlerinin, kanalizasyon atık sularının, besicilik ve hayvan yetiştiriciliğinden gelen kirlilik sulama suları ve kanallar ile tarım alanlarının etraflarında bulunan yer üstü ve yer altı sularına karışması ise önemli ölçüde çevre kirliliğine neden olmaktadır. Bunlara nehirlerin kirliliği de dâhildir. Avrupa ülkelerinde atıksu direktifi, atıksu deşarjından aşağı noktalardaki su kaynaklarının kalitesini korumak amacı ile biyokimyasal oksijen ihtiyacı ve nütrientlerin kontrolünü hedeflemektedir. Ancak Avrupa Birliğinde Su Çerçeve Direktifi kapsamında Endokrin Bozucu Kirletici (EDC) etkili bileşiklerin çoğunun deşarjı için düzenlemeler ve yaptırımlar bulunmaktadır. Küresel ısınma sonucunda hidrolojik rejimlerde değişiklikler yüzey sularının su miktarının azalmasına dolayısı ile atıksu deşarjlarının toplam yüzey suyu miktarına giderek artan oranda katkıda bulunmasına sebep olmaktadır (Huber, Bach, ve Frede, 2000; Kumbur, Özsoy ve Özer, 2008; Al-Salhi, Abdul-Sada, Lange, Tyler, ve Hill, 2012; Hachfi ve diğerleri, 2012).

Kullanılan çeşitli pestisitler de yağmur, toprak kayması ve zemin geçirgenliği, biyolojik taşınım gibi çeşitli etmenlerle sucul ekosistemlere kontamine olabilmektedir. Bu bulaşmadan tüm sucul canlılar doğrudan etkilenmektedirler. Bulaşmanın sürekli hal alması da sucul canlılarda kimyasal akümülyasyona sebep olmaktadır. Bu durum canlı vücudunda birçok istenmeyen etkiye neden olabilmektedir. Kontamine olmuş suyun evlerde, sanayide ve tarımda tekrar kullanımı ise toplum sağlığını doğrudan etkileyen bir unsur olarak ortaya çıkmaktadır (Al-Salhi ve diğerleri, 2012).

Çoğu Avrupa ülkesinin iç sularında doğal balık popülasyonlarında azalma resmi kayıtlarla tespit edildikten sonra sadece balıkçılık endüstrisi için endişe yaratmamış, buna ilaveten bilim alanında da yüzey sularının ekolojisine balıkların katkısı ilgi çekmiş ve bu yönde araştırmaların artmasını desteklemiştir. Amerika kıtasında göller bölgesi ile Newyork-New

Jersey körfez bölgesinde dioksinler, furanlar ve diğer kalıcı organik kirleticilerin balık popülasyonlarında azalmalara, üreme faaliyetinde gerileme ve erken ölümlere yol açtığı bildirilmiştir (Bugel, White ve Cooper, 2010; Chiang ve diğerleri, 2011). Deniz alası ve yılan balığı gibi göçmen türlerde de azalmalar tespit edilmiş; daha sonra göç etmeyen kahverengi alabalık ve Cyprinidlerde de azalmalar bildirilmiştir (Arukwe ve Roe, 2008). Tatlı su balıkları amfibilerden sonra omurgalıların en fazla tehdit altındaki grubunu oluşturmaktadır. Bu azalmaların su kalitesinin bozulması, habitat kaybı, hidrolojide değişiklikler ve patojenlerin sebep olduğu hastalıklarda artışlar gibi muhtelif çevresel stresörlerle ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Bazı çevresel stresörlerin birlikte hareket ederek balık sağlığını olumsuz etkilediği, immün sistemi baskılayarak parazitlere ve patojenlere balıkların duyarlılığını arttırdığı bildirilmiştir (Al-Salhi ve diğerleri, 2012). Sanayi ve tarım faaliyetlerinde kullanılan birçok kirleticinin endokrin bozucu olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada endokrin bozucu olduğu bilinen kirleticilerin Mogan Gölü'ndeki (Ankara-Gölbaşı) ekonomik öneme sahip balıkların vitellogeninlerine ve gonad histopatolojisine etkileri araştırılmıştır.

2.2. Mogan Gölü

Mogan Gölü etrafında çok sayıda sanayi tesisi ve taş işleme tesisi bulunmaktadır. Bunun yanında göl etrafında yerleşik yaşam, tarım ve hayvancılık faaliyetleri de yapılmaktadır (Karakoç, Erkoç ve Katırcıoğlu, 2002; Fakıoğlu ve Polatsü, 2005). Burnak ve Beklioğlu (2000) yaptıkları araştırmada Mogan Gölü'nü besleyen akarsularda nitrojen ve fosfor yükünün fazla olduğunu bildirmişlerdir. Fakıoğlu ve Polatsü (2005), Mogan Gölü'ndeki fosfor yükünü araştırmış ve yükün çok yüksek düzeyde olduğunu saptamışlardır. Gölün çeşitli kirleticilerin etkisi altında olduğunu ve alınan önlemlerin yetersiz kaldığını belirtmişlerdir. Arındırma işlemlerinin hızla artırılmasının Mogan Gölü'nün ötrofikasyon sürecini önemli ölçüde yavaşlatacağını belirtmişlerdir. Derin göllerin kirletici yükünün azaltılması işlemlerine, sığ göllere nazaran daha iyi cevap verdikleri bildirilmektedir (Beklioğlu, Carvalho ve Moss, 1999).

Sucul canlılar yaşadıkları ortamdaki birçok değişkene doğrudan maruz kalırlar. Kirlilik etkisi altında kalan sucul canlılar fizyolojik faaliyetlerini değiştirerek bulundukları ortama uyum sağlamaya çalışırlar. Bu değişiklik endokrin yapılarda da görülebilmektedir (Şahan, Altun ve Nevşat, 2009).

2.3. Mogan Gölü’nde Yaşayan ve Ekonomik Öneme Sahip Balık Türleri

Mogan Gölü balık çeşitliliği açısından verimli bir göldür. Yüzey alanının büyüklüğü birçok balık türünün yaşamı için gölü elverişli hale getirmektedir. Gölde yaşayan balıklar bölge halkı tarafından besin olarak kullanılmaktadır. Ancak bu türlerden *E. lucius*, *C. carpio*, *C. carassius*, *T. tinca* gölün sahip olduğu ekonomik balık türleridir.

2.3.1. Sazan (*Cyprinus carpio* L.,1758)

Sazan balığı iç sularımızda oldukça fazla bulunan bir türdür. Boyları yaklaşık 100-150 cm ağırlıkları ise 20-30 kg kadar olabilmektedir. Yanal çizgilerinde 40 civarında pul vardır. Kışın suların derin yerlerinde besin almadan yaşamlarını sürdürürler. Nisan- Mayıs aylarında su bitkileri üzerine yumurta bırakırlar. Bir yumurtlama döneminde yaklaşık 1 500 000 adet yumurta bırakabilirler. Bitkiler ve kökleri, böcekler, kabuklular, eklembacaklılar, küçük balıklar ve yakalayabildiği her tür küçük canlıyı besin olarak kullanabilirler. Avrasya kökenli olmasına karşın tüm dünyada yayılım göstermektedir. Yüksek verim elde etmek ve görünümünün güzelleştirilmesi amacı ile pekçok varyasyona tabi tutulmuştur. Yaşamları uzundur fakat optimum gelişme 23°C ‘de olur. Oksijen toleransları yüksektir (Bat, Erdem, Tırıl ve Yardım, 2008).

2.3.2. Havuz Balığı (*Carassius carassius* L., 1758)

C. carpio L.,1758’ya çok benzer, renkleri sarımsı, gri veya yeşil tonlarındadır. Büyüme hızı oldukça düşüktür. Boyları en fazla 60 cm civarındadır. Avrasya kökenli bir türdür. Sucul otlar, dip hayvanları ve sinek larvaları ile beslenir. Yaklaşık 20 °C su sıcaklığında Mayıs- Haziran aylarında 300 000 yumurta bırakabilirler. Büyük boyda olanların etleri lezzetlidir (Bat ve diğerleri, 2008).

2.3.3. Kadife (*Tinca tinca* (L., 1758))

Boyları en fazla 65 cm. olup ağırlıkları 4 kg’a kadar ulaşabilir. Pulların deri içerisine gömülü olmasından dolayı vücut oldukça kaygandır. Erkek bireyler abdominal bölgedeki kalınlaşmış ışınlı ile teşhis edilirler. Yaklaşık 4 yılda ergenliğe ulaşırlar. Ortalama ömürleri ise 10 yıl kadardır. Durgun suları severler. İstilacı bir davranış sergileyen kadife balıkları

doğal olarak bulunmadıkları sularda hızla sayılarını artırır fakat bu artış otçul olmalarından dolayı tehlike arz etmez. Et lezzetleri bulundukları bölgenin su kalitesi ile doğrudan ilişkilidir. Temiz olan sularda etleri lezzetlidir. Bilimsel alanlarda ise kirlilik indikatörü tür olarak da anılır. Ekonomik öneme sahip ve geniş yayılım gösteren önemli bir türdür (Hamalosmanoğlu ve Kuru, 2004; Bat ve diğerleri, 2008; Benzer, Gül ve Yılmaz, 2008).

2.3.4. Turna (*Esox lucius* (L., 1758))

Ülkemiz iç sularında oldukça geniş yayılım gösteren ve ticari değeri yüksek olan bir türdür (Yağcı, Alp, Uysal, Yeğen ve Yağcı, 2009). Turna balığı erginlerinin sırtları kurşuni yeşil renklidir. Boyları ülkemiz için genellikle 100 cm.'ye kadar olabilmektedir. Dişileri boyca ve ağırlıkça erkeklerden büyüktür. Gece avlanan istilacı ve karnivor bir türdür. Doğal olarak bulunmadığı sulara aşılması o ortamlardaki diğer türler için ciddi bir tehdit oluşturur. Etleri sert ve lezzetlidir. Amatör ve ticari açıdan oldukça önemli bir türdür (Bat ve diğerleri, 2008).

2.4. Mikronükleus

Mikronükleus (MN); mitoz bölünme sırasında kromozom kırılması (klastojeni) ve gen farklılaşması (mutasyon) ile meydana gelen; tam kromozom veya düzensiz kromozom parçalarından oluşan sitoplazma içerisinde bulunan küçük çekirdekçik görünümündeki oluşumlardır ve çekirdek ile aynı özelliği taşırlar. MN miktarının sayısal artışı genetik düzensizliğin en önemli belirtecidir. MN testi hem anojenik hem de klastojenik etkileri birlikte değerlendirebilmek için geniş kullanım alanı bulunan bir testtir (Heddle ve diğerleri, 1991). Bazı kromozomların genomlarındaki orantısız sayısal artışı veya azalışı (anöploidi) tetikleyen ajanlar sentromer bölünme sorunlarına ve iğ iplikçiklerinde işlevsel farklılaşmalara sebep olarak; kromozomal kırıklar ortaya çıkararak MN oluşumunu sağlarlar (Schiffmann ve De Boni, 1991; Fenech, 2000; Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011; Yıldırım ve Yıldırım, 2011).

MN testi dış kaynaklı fiziksel ve kimyasal ksenobiyotiklerin oluşturduğu genotoksik hasarların in vitro ve in vivo olarak tespit edilmesinde sıklıkla kullanılan bir testtir. MN testi önceden kandaki kimyasal maddelerin sebep olduğu anomalileri in vitro olarak

saptamak için kullanılmış fakat araştırmacıların geliştirdiği birçok yeni yöntem sonucu başka dokularda da uygulama alanı bulmuştur (Yıldırım ve Yıldırım, 2011). Stopper ve Müller (1997), MN testinin memelilerin birçok türündeki hücrelerin kromozomal düzensizliklerini tespit etmek için geliştirildiğini ve oldukça faydalı bir inceleme yöntemi olduğunu bildirmişlerdir. İnsanlarda mikronükleus frekansını belirleme ve DNA hasarının ölçülmesi çalışması MN test yöntemleri kullanılarak yapılmıştır (Fenech, Holland, Chang, Zeiger ve Bonassi, 1999). MN testi günümüzde in vivo ve in vitro olarak hemen hemen tüm türlerde tüm hücrelere uygulanabilmektedir. Bu test kromozom deformasyonlarını gösteren diğer testlere göre hem süratli hem de basit bir şekilde cevap vermektedir. Anojenler etkisi altında oluşan MN'ler tam bir kromozom içerebileceğinden daha büyük hatta hücre çekirdeğine çok yakın bir büyüklükte bile olabilir. Klastojenler kromozom kopması veya parçalanmasına sebebiyet verdikleri için bu tip maddelere maruz kalan hücrelerde oluşan MN'ler genellikle daha küçük boyutlu olabilmektedirler (Fenech, 2000; Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011). Doku örneklerinde karşılaşılan MN'ler dokunun alındığı canlının herhangi bir genotoksik etki altında olup olmadığının anlaşılmasında oldukça önemli belirteçlerdir.

Sitotoksik etkili maddeler ve potansiyel mutajenler sucul canlılar üzerinde oldukça etkilidir. Çünkü sucul canlılar yaşadıkları ortam itibari ile bu maddelere doğrudan maruz kalırlar. Sucul canlılarda meydana gelen sitotoksik etki insanlar ve deney hayvanlarında tümöre sebep olabilmektedir (Matsumoto ve diğerleri, 2006). Son yıllarda sucul ortamlarda bulunabilen toksik kimyasalların genotoksik etkilerinin özellikle balıklar üzerinde incelenmesi giderek artmıştır. Bu etkiler incelenirken özellikle mikronükleus testi yaygın olarak kullanılmıştır (Çavaş ve Ergene-Gözükara, 2003). Ayllon ve Garcia-Vazquez (2000), *Phoxinus phoxinus* ve *Poecilia latipinna* türlerinde mikronükleus miktarını ve nükleer anomalileri karşılaştırmalı olarak ölçümlemişlerdir. Grisolia (2002) cyclophosphamide, mitomycin C ve çeşitli pestisitlerden alliete, brestanid, decis 25 CE (deltamethrin), kelthane 480 CE (dicofol), toparlayıcı (glyphosate), imazapyr ve thiram olan pestisitlerin balıklar ve fareler üzerine etkilerini karşılaştırmalı olarak araştırmıştır. Sepici-Dincel ve diğerleri (2011) bir organofosforlu insektisit olan fenitrothion'un subletal dozlarının juvenil *C. carpio*'ların karaciğer, solungaç, kas ve beyin dokuları üzerine genotoksik yan etkilerini eritrosit mikronükleus testi ile araştırmışlardır. Matsumoto ve diğerleri, (2006) *Oreochromis niloticus* üzerine tabakane atıklarının etkilerini ve bu etkilerin diğer canlılara olan aktarımını incelemişlerdir. Laboratuvar şartları altında

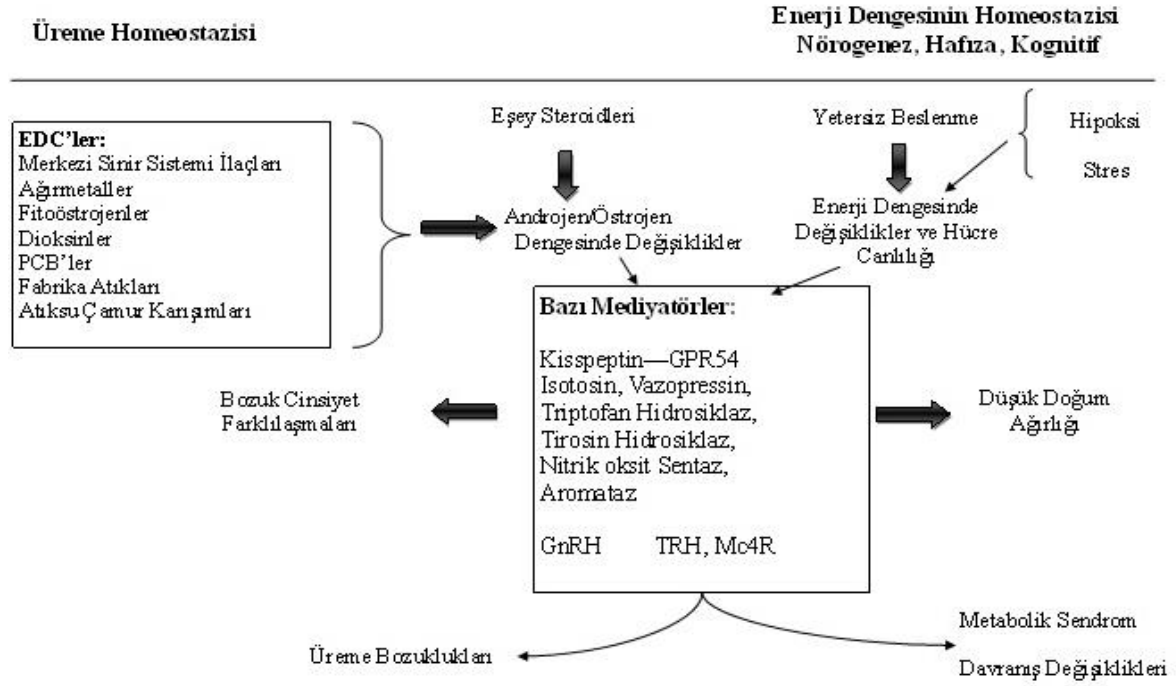
ksenobiyotiklere maruz kalan balıkların periferik sistemlerinde mikronükleus indüksiyonu araştırılmıştır (Bolognesi, Perrone, Roggieri, Pampanin, ve Sciutto, 2006).

2.5. Endokrin Bozucu Kirleticiler

Endokrin Bozucular; endokrin sistemin gelişimini ve fonksiyonunu değiştiren, ekzojen madde veya madde karışımlarıdır. EDC'lerin çoğu "ksenoöstrojen" sınıfına dâhil edilir. Çünkü östrojen hormonların etkilerini taklit ederler. Başka bir tanımla endokrin bozucu; sağlıklı canlı bir organizmada veya onun sonraki nesillerinde hormonal sistemin işleyişini farklılaştırarak, sağlık problemlerine sebebiyet veren madde veya madde karışımlarıdır (Çetinkaya, 2009; Zhou, Shan Zhu ve Cai, 2009). Endokrin bozucular ilk olarak 1980'lerde doğal ortamlarda üremenin azalmasının farkına varılması ile başlayıp 1990'larda ciddiye alınmıştır. İlk başlarda periferik ve hormonal fonksiyonları etkilediği düşünülürken daha sonra davranış ve nöroendokrin sisteme etkilerde rapor edilmiştir. Kök hücreler, nöronlar ve glia da EDC'lerin hedefi olabilmektedir (Trudeau, Kah ve Bourguignon, 2011).

En sık görülen EDC'ler hipotalamik-hipofiziyer- tiroidal veya gonadal eksenin çalışmasını değiştirdiklerinden üreme ve gelişimde bozukluklara sebep olurlar. Sayılan fizyolojik süreçlerden başka çevresel kirleticiler, küresel ısınma ve insan kaynaklı diğer faktörlerde EDC aktivitesi gösterebilir. Memeliler gibi balıkların da hormon metabolizmasını, hormonlar tarafından düzenlenen hücresel veya fizyolojik süreçlerini bozarak etkilerler. Doğal ortamdaki balıklar ise insanlarda medikal amaçlı kullanılan üreme siklusu düzenleyici ve hormon etkili maddelerin sucul ekosisteme karışması sonucunda tehdit altında kalmaktadır. Birçok örnekte ise kanalizasyon atık sularının yüksek seviyede taşıdıkları insan östrojen ve androjenleri, ilaç üretimi atıkları yüzünden EDC'lere maruz kaldıkları görülmektedir. Böyle ksenobiyotikler üreme ile ilgili endokrin sistemi bozduklarından gamet gelişimini ve canlılığını ya sitotoksiste veya gamet gelişimi sırasında hormonal çevreyi değiştirerek etkilerler. EDC gonadın eşeysel farklılaşmasını, eşeysel olgunlaşmanın zamanlamasını, gonadosomatik indeksi (GSI) ve üreme organlarının morfolojisini etkileyebilirler. Balıklar EDC'lerden birinci derecede etkilenen risk altındaki organizmalardır. Balıklar sadece çeşitli EDC'lere doğrudan maruz kalmaz; aynı zamanda balıklarda eşeyin belirlenmesi labil olduğundan kritik gelişim evrelerinde ekzojen hormona maruziyet ile etkilenebilir ve hatta tersine dönebilir (Hachfi ve diğerleri, 2012). Bu maddeler, hormonların üretim, salınım, bağlanma, taşınma, aktivite, yıkım ve

vücuttan atılımları üzerine etki etmektedirler. Doğada doğal olarak bulunabildiği gibi değişik sentetik ve endüstriyel ürünlerin içerisinde de yer almaktadırlar (Yeşilkaya, 2008). Doğal endokrin bozucular günlük yaşam sırasında çeşitli besinlerle vücuda girer ve vücuttan kolayca atılabilirler. Sentetik endokrin bozucular ise özellikle tarım ürünleri, gıda maddeleri ve doğum kontrol hapı gibi östrojen ve androjen etkili ilaçlar içerisinde bulunabilirler. İnsanda metabolik faaliyetler sonucunda oluşan ürünler, farmasötikler, biyosidaller, evsel ürünler atıksu arıtma çıkış suları vasıtası ile nehirlerle deşarj olur, balıklarda kompleks karışımlar halinde biyoakümüle olur (Bjorkblom, Mustamaki, Olsson, Katsiadaki ve Wiklund, 2011). Uzun süreli maruziyet balık sağlığını olumsuz etkileyeceğinden popülasyon seviyesinde etkiler olarak ortaya çıkabilir. EDC'ler bu grup kontaminantlara dahildir ve östrojenik kimyasallar olduklarında erkek balıklarda feminizasyon sonucu intersex bireylerin oluşmasına ve fertilité düşüşlerine sebep olurlar (Tyler, Jobling ve Sumpter, 1998). Daha sonraki çalışmalarda ise androjen reseptörü üzerinde antagonist etki gösteren EDC'ler atıksu arıtma tesisi sularında saptanmış ve balık sağlığını üreme yönünden olumsuz etkileyeceği ileri sürülmüştür. İngilterede yapılan bir çalışmada atıksu arıtma tesisinin çıkışından tesisin alt bölgesindeki nehirlerle bırakılan erkek balıklarda östrojene bağımlı fizyolojik bir karşılık olan vitellogenine rastlanmıştır (Tyler, van der Eerden, Jobling, Panter ve Sumpter, 1996; Andersson, Katsiadaki, Lundstedt-Enkel ve Örberg, 2007; Al-Salhi ve diğerleri, 2012). Temizlik malzemeleri (deterjanlar gibi), fungusitler, pestisitler, herbisitler ile boyalar, plastikler ve çözücüler gibi organik kimyasalların endokrin bozucu olma potansiyeli vardır (Hachfi ve diğerleri, 2012).



Şekil 2.1. Üreme Homeostazisi (Trudeau ve diğerleri, 2011'den değişiklikle)

Bilinen sentetik endüstriyel kimyasalların birçoğu, androjen ve östrojen gibi hormonların etkilerine benzer etkiler göstermektedirler (Çek ve Sarıhan, 2010). Endokrin sistemde bozucu etki yaratan kimyasal maddeler, balıkların da biyokimyasal sistemlerini agonistik veya antagonistik olarak etkilerler (Colborn, vom Saal ve Soto, 1993). Endokrin bozucu kirleticilerin birçoğu östrojen uyarıcı etki yaparlar. Diğer bir deyişle vücut içerisinde östrojeni taklit ederler. Dolayısı ile bu kirleticiler canlı vücudu içerisindeki hormonal dengeyi bozabilecek etki yaratabilir. Söz konusu bileşiklerin östrojenik aktivitesi zayıftır. Ancak sucül çevrede önemli konsantrasyonlara ulaşarak, birden çok madde aynı ortamda kirletici olarak bulunduğu sinerjistik etki göstererek toksisiteleri artabilmektedir. Diğer taraftan söz konusu bileşiklerin lipofilik özelliğinden dolayı sucül canlılarda 100 000 katına kadar biyoakümülyasyon gösterebilmektedir. Balıklar sucül besin zincirinin en üst kademesinde bulunduğundan ekosistem etkilerinin değerlendirilmesinde indikatör olarak tercih edilmektedir. Çevresel östrojenlerin çoğu şans eseri bulunmuş, ancak daha sonraki yıllarda östrojenik aktivite için kimyasal gruplarının sistematik olarak bu aktivite için taranmasına başlanmıştır. Son yıllarda yapılan araştırmalara göre insan yapımı kimyasallardan kullanımda olan 100 000'den fazla östrojenik aktiviteli madde bilinmektedir (Çizelge 2.1) (Tyler ve diğerleri, 1996; Bjorkblom ve diğerleri, 2011; Çek ve Sarıhan, 2010).

Çizelge 2.1. Başlıca endokrin bozucular (Yeşilkaya, 2008; Marino, Pellegrini, La Rosa ve Acconcia, 2012; Martyniuk, Alvarez, Lo, Elphick ve Marlatt, 2012)

Fitoöstrojenler	Daidzein, Genistein, Formononetin, Biokanin-A, Prunetin, Pratensein, Glisetein, Ekuol, Desmetilangolestin, Enterolakton, Enterodiol, Matairesinol, Zearalanon
Organohalojenler	Dioksinler, Furanlar, Poliklorlu bifeniller, Hekzaklorobenzen, Pentaklorofenol
Pestisitler	BBDH (2,4-diklorofenoksi asetik asit [2,4-D], 4-Klorometoksi asetik asit, Klormekuat), Alaklor, Aldikarb, Amitrol, Atrazin, Benomil, Karbaril, Klordan, diklorodifeniltriokloroetan ve metabolitleri, Endosulfan, Etilparatyon, Heptaklor, Kepon, Ketokonazol, Lindan, Malation, Trifluralin, Vinklozolin, Metoksiklor, DDT
Fitalatlar (Plastikleştirici)	Di-etilheksil fitalat, Butil benzil fitalat, Di-n-butil fitalat, Di-n-fenil fitalat, Di-heksil fitalat, Di-propil fitalat, Dikloroheksil fitalat, Dietil fitalat
Ağır Metaller	Arsenik, Kadmiyum, Uranyum, Kurşun, Civa, Bakır
İlaçlar	Doğum kontrol hapları, Dietilstilbestrol, Simetidin
Diğerleri	Bisfenol A, B ve F, Etan dimetan, Sulfonat, Metanol, Benzofenol, n-butil benzen, 4-nitrotoluen, 2,4-diklorofenol, Noniyonik Sürfektanlar (nonilfenol ve oktilfenol), Organokalay

2.5.1. Endokrin bozucu kirleticilerin çalışma prensipleri

Endokrin bozucular planlanmamış, elde olmayan sebeplerle üretilmiş ekzojen sinyallerdir. Hormonların kontrol ettiği fizyolojik süreçleri bozma potansiyelleri vardır. Bu süreçlerden canlılar için önemli olanlar: büyüme, gelişme, immünite, eşeyssel farklılaşma ve üremedir. Son yıllarda laboratuvar ve arazi çalışmalarından elde edilen sonuçlara göre EDC'lerin biyolojik kaynakların azalması ve biyoçeşitlilik kaybında potansiyel anahtar faktörler olduğu bildirilmiştir. EDC'ler sadece tatlısullardaki biyotayı etkilemekle kalmaz, bunun yanında deltalar, kıyısal bölgeler ve okyanuslarda yaşayan canlılar için potansiyel tehlike oluşturmaktadır. EDC'lerin sucul canlılara olumsuz etkileri kamuoyunda da endişe yaratmış ve bazı haber programları pasifikte yaşayan deniz balıklarının popülasyonlarının üreme biyomas değerlerinin %65 azaldığını gündeme taşımışlardır (Zhou ve diğerleri, 2009). Endokrin bozucu kirleticiler hormonun biyosentezi, vücut içerisinde taşınması, parçalanması ve vücuttan atılma şeklini farklılaştırabildikleri gibi, hedef hücredeki fizyolojik etki formunu ve şeklini de değiştirebilmektedirler. Görüldüğü gibi EDC'ler hormon sisteminin normal çalışmasını birkaç farklı düzeyde etkiler. Reseptörüne bağlanarak taklit etme, reseptörüne endojen hormonun bağlanmasını bloke etme, doğal hormonların metabolizma ve aktivitelerini değiştirme etkisi göstermektedir. Teleost

balıklarda ve çoğu omurgalılarda tiroid bezi PCB'ler için iyi tanımlanmış bir hedeftir. 3,3',4,4',5-pentakloro bifenil ile kontamine olmuş deniz suyuna maruz bırakılan alabalıklarda plazma etinil östradiol (EE₂) ve tiroid hormonu düzeyleri kontrol grubuna göre azalmıştır (Brown ve diğerleri, 2004). EDC'lerle kirlenmiş sularda yaşayan fokların tiroid bezlerinde histopatolojik lezyonlar rapor edilmiştir (De Guise, Martineau, BeIand ve Fournier, 1995). EDC aktivitesi gösteren gruptan olan organoklorlu bileşikler de adrenal bezleri hedef organ olarak etkiler. Baltık Denizinde yaşayan su samurlarında (*Lutra lutra*) adrenal hiperplazisi rapor edilmiştir. Örneklem yapılan bölge yüksek miktarda organoklorlu kirletici yükü taşımaktadır (Keymer, Wells, Mason ve Macdonald, 1988). Deniz kuşları ve balıklarda aşırı yüksek organoklorin ve DDT metabolitleri bulunmuş ve bunların adrenal korteks hücrelerine kovalent bağlandığı ve toksisitelerinin gen düzeyinde etkili olduğu bildirilmiştir (Brandt, Jonsson ve Lund, 1992). Sucul türlerin immün sistemine EDC'lerin hasar vermesi de toksik etkilerinin diğer bir mekanizmasıdır. Özellikle balık ve kabuklularda organohalojenlerin immün sistemin hücresel ve humoral kısımları üzerine çok yüksek toksik etkileri bildirilmiştir. EDC'lerin immünotoksitesi kurbağa, karides ve deniz kaplumbağalarında da gösterilmiştir. Salyangozlarda androjen steroidlerin metabolizmasının bozulduğu, eşeyssel farklılaşmanın veya ikincil eşey karakterlerinin etkilendiği bildirilmiştir. Fitalat esterlerinin prematür doğum, üreme hızında düşüş, juvenillerin yaşama oranında düşüş ve sperm kalitesinin azalması da dahil olmak üzere omurgalı ve omurgasız hayvanlarda bazı etkileri bildirilmiştir (Şekil 2.1). Bazı EDC'lere maruziyet erişkin hayatta sucul canlıların eşeyssel kapasitesini sürekli olarak değiştirebilmektedir. Buna özellikle balıklarda gamet kalitesi, embriyonun kalitatif ve kantitatif hataları dahil edilmiştir. Ekotoksikolojik etkilerden bir diğeri de davranış değişiklikleri olduğundan EDC maruziyeti üreme performansını değiştirdiği için davranışı bozabilmektedir (LaBlanc, 2007; Zhou ve diğerleri, 2009). Endojen steroid hormonlara göre östrojen (ER) ve androjen (AR) reseptörlerine bağlanmaları daha düşük olmasına rağmen çok düşük konsantrasyonda bile normal gelişim ve üreme süreçlerini etkileyebilirler. Bu sonuçlar, sürekli olarak düşük konsantrasyonda antropojenik kirleticilere maruz kaldıkları halde önemli risk oluşturduklarının belirlenmesi ile açığa çıkmıştır. Doğum kontrol haplarında kullanılan EE₂'nin sucul ekosisteme deşarj olması ile bildirilmiştir. EE₂'nin etkileri juvenil ve erkek balıklarda VTG indüksiyonu, eşeyssel farklılaşmaya müdahale, gonad gelişiminde gerileme ve üreme veriminde aşırı düşüş bildirilmiştir. Mekanizma olarak Gonadotropin-rilizing hormon (GnRH) nöronları üzerinde etkiler düşünülmektedir, ancak kesin değildir (Çizelge 2.1) (Le Page, Vosges, Servili,

Brion ve Kah, 2011). Teleost balıklar, amfibiler, kuşlar ve memeli EDC'lerin deneysel gösterilmiş etkileri, aynı zamanda insanda da görülebilmektedir (Trudeau ve diğerleri, 2011). EE₂ sucul ortamlarda iz seviyede ng/L düzeyde belirlenmiş olmasına rağmen balıklarda sürekli olumsuz etkiler gösterdiğinden popülasyonları önemli şekilde etkilemiştir. Su arıtma tesislerinin çıkışından sonra EE₂ yüzey sularında konsantrasyonları genellikle 1-10 ng/L olarak bulunmuştur. Sediment ve sanayileşmiş ülkelerin atıksularında ise 40 ng/L'ye çıkabilmektedir (Le Page ve diğerleri, 2011). Doğal balık popülasyonları üzerinde EDC'lerin hem üreme hem popülasyonun gelişmesine uzun süreli etkileri olduğu kesin olarak bilinmektedir (Jobling, Nolan, Tyler, Brighty ve Sumpter, 1998; Jobling ve diğerleri, 2004; Zhou ve diğerleri, 2009; Hachfi ve diğerleri, 2012). Sucul ortamlarda bu etkilerin tamamı veya bir kaçı da bir arada görülebilmektedir. Laboratuvarda görülen bulgular, tüm etkilerin bileşimine göre gerçekleşmektedir (Teilmann, Juul, Skakkebæk ve Toppari, 2002). Balıklarda üreme sistemini bozan çevresel kimyasallar etki mekanizmasına göre 4 grupta incelenir. Bunlar; östrojenik, anti-östrojenik, androjenik ve anti-androjenik bileşiklerdir. EE₂ sinyal yolu ile etki eden EDC'ler daha fazla çalışılmasına rağmen dışı balıklarda normal üremenin bozulması ve maskülizasyon ile sonuçlanan çevresel androjen etkiler daha az araştırılmıştır. Androjenlerin *Oryzias latipes*, *Pimephales promelas*, *Danio rerio* balıklarının dışı bireylerinde olumsuz etkileri rapor edilmiştir. Androjenik etki dişilerde VTG sentezini ve serbest bırakılmasını da beşeri amaçla kullanılan androjen 17β-trenbolon uygulanan balıklarda doza bağımlı olarak azaltmıştır. Hayvan deneylerinde in vitro ve in vivo olarak pestisitlerden vinclozolin, procymidone, linuron, prochloraz, ve fitalatlardan dietilheksil fitalat (DEHP) ve Dibütil fitalat (DBP) en çok çalışılmış ve anti-androjenik aktiviteleri saptanmış ksenobiyotiklerdir. Epidemiyolojik araştırmalar pestisitler ve diğer EDC'lere insan maruziyeti ile sebep-sonuç ilişkisi olarak sperm kalitesinin çok azalması ve cyrptorchidism vakalarında artışlar göstermiştir (Birkhøj ve diğerleri, 2004). Birkaç teleost balık modelinde ise androjene maruziyet VTG'sini kodlayan mRNA sentezini karaciğerde azaltmıştır. Androjenlerin etkileri birkaç nesil boyunca devam edebilmektedir (Martyniuk ve diğerleri, 2012). Son yıllarda civa, kadmiyum, kurşun, bakır ve arsenik endojen hormonların sentez, taşınma ve metabolizmalarına müdahale etmelerinden dolayı EDC olarak sınıflandırılmışlardır. Diğer taraftan rilizing faktörleri ve trofik hormonların sentez ve bağlanmasını etkileyebilen diğer kimyasallar da EDC grubunda kabul edilir. Kadmiyumun memeli ve balıklarda ER'ye yüksek ilgisi olduğu gösterilmiştir (Hachfi ve diğerleri, 2012).

Endokrin bozucuların etki mekanizmaları şunlardır:

- Hormonların biyosentezinde hızlandırıcı veya yavaşlatıcı etki
- Hormonların taşınmasında hızlandırıcı veya yavaşlatıcı etki
- Hormonların vücuttaki fonksiyonlarında stimülasyon/aktivasyon veya inhibitör etki
- Hormonların vücuttan atılımı üzerine arttırıcı/hızlandırıcı veya yavaşlatıcı etki
- Hormonların hedef hücredeki çalışmasına benzer (agonist) veya ters etki (antagonist)

Bütün bu etkiler endokrin bozucunun vücutta bulunma süresine, miktarına, tek başına veya başka kimyasallarla birlikte sinerjetik etki oluşturmaya ve yaşa göre değişiklik gösterebilmektedir (Çetinkaya, 2009).

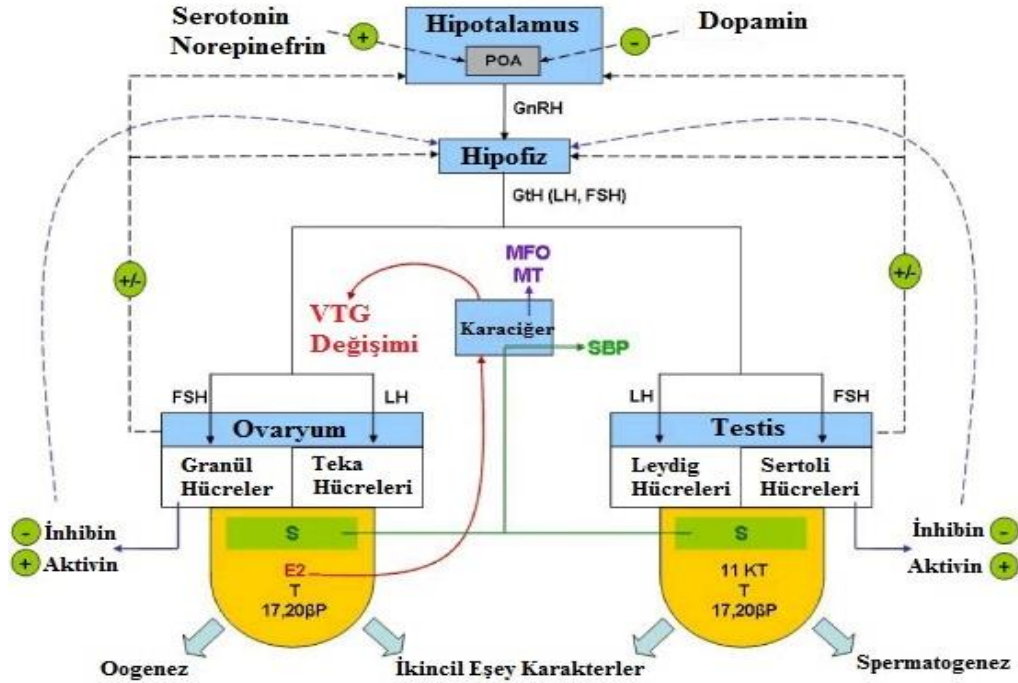
2.6. Balıklarda Üreme Sistemi

Bütün omurgalıların ortak özellikleri olan üremenin Hipotalamik-Pitüiter-Gonadal (HPG) hipotalamik-hipofizier-gonadal (HHG) eksenini ile kontrolü balıklarda da görülür. Beyinden gelen sinyaller gonadotropin-rilizing hormonun (GnRH) hipotalamustan salgılanmasını kontrol eder (Le Page ve diğerleri, 2011). GnRH adenohipofizden gonadotropinlere salınmasını uyarır. Luteinize edici hormon (LH) ve folikül stimüle edici hormon (FSH) ovaryumda gronüloza bölgesi FSH'a özgü reseptörler taşır (FSHR). FSH'nın görevi, folikülün olgunlaşmasını uyarırken aromatisasyon yoluyla androjenlerin östrojene dönüşümünü sağlamaktır. Teka hücrelerinde LH kendi reseptörüne (LHR) bağlanarak androjen üretimini indükler. Böylece ovulasyon başlar. Testiste ise FSHR sertoli hücrelerinde bulunur. FSH'nın sertoli hücresinin proliferasyonu ve spermatogenezi uyardığı bilinmekle beraber fizyolojik rolü hakkında bilgiler sınırlıdır. LHR leydig hücrelerinde yerleşiktir. LHR kompleksi androjen sentezini başlatır. Daha sonra bu hipofiz hormonları steroidojenik enzimlerin aktivitesini düzenler. Gonadotropinler bir taraftan gonad gelişimini uyarırken, diğer taraftan dişilerde 17 β -östradiol ve erkeklerde testosteron (T) ve başlıca 11-ketotestosteron (11KT) ile olgunlaşmayı indükleyici hormonların üretimini uyarır. Memeliler ile balıklar arasındaki temel fark, balıklarda başlıca testiküler androjenin 11KT olmasıdır. Dişilerde ise ovaryum östrojenleri memelilerden farklı etkilere sahiptir. EE₂'nin hedef dokusu karaciğer olduğundan, buraya giderek yumurta sarısı proteini vitellogeninin (VTG) üretilmesini sağlar. Östrojenlere cevap olarak dişi balıkların hepatositlerinde sentezlenen VTG kana salgılanır ve yumurtalığa taşınarak gelişmekte olan oositin nütrient deposunu oluşturur. VTG, gonadotropin FSH'nın etkisi altında oositin

yapısına katılır. Yumurta zarının gelişimi için gerekli ER, VTG ve Koriyojeninleri kodlayan genler üreme için gerekli bu özgül proteinlerin sentezini EE₂ ile indükler. Memelilerde çok detaylı çalışılmasına rağmen balıklarda FSH ve LH'nın spesifik görevleri günümüzde tam olarak bilinmemektedir. Balıklarda FSHR memelilerdekine benzer olarak sertoli hücrelerinde eksprese olur. Daha sonra yapılan çalışmalarda ise leydig hücrelerinde de FSHR bulunduğu gösterilmiştir. Steroidler sekonder eşey karakterlerinde, davranışta, gelişim ve gametlerin olgunlaşmasında çeşitli değişiklikleri başlatır. Gametogenez hem sistemik hem intragonadal sistemlerin faaliyetleri ile kontrol edilir. EE₂ ve 11KT salgıları durduğunda biyosentez yolu progesteron salgısına döner ve oosit veya testiste son olgunlaşmayı sağlar. HPG eksenini normal üremenin devamlılığını ve mevsimsel üreme sikluslarının senkronizasyonunu kontrol eder. Çoğu omurgalıda olduğu gibi teleost balıklarda da içinde bulunan üreme evresinin hangisi olduğuna göre GnRH ve eşey steroidlerinin düzeyleri değişerek tipik üreme dönemlerinin oluşmasını sağlar. Memelilerde plazma EE₂ en yüksek, progesteron en düşük düzeydeyken yumurtlama öncesi LH patlaması görülür. Balıklarda ise düşük plazma EE₂ ve artmış 17,20 dihidroksiprogesteron düzeyleri yumurtlama öncesinde görülür (Allner, Wegener, Knacker ve Stahlschmidt-Allner, 1999; Andersson ve diğerleri, 2007; Arukwe ve Røe, 2008; Amano, Fujita, Hiramatsu, Todo ve Hara, 2009).

Hormonal faktörlere ilaveten balıklarda gonad gelişimi ve cinsi olgunlaşmanın zamanlaması ışık ve su sıcaklığı gibi dış etkenlerin beyin üzerine etkisi ile kontrol edilir. Balıklarda üremenin bu evrelerinde ve kontrol mekanizmalarının herhangi birinde değişiklik ve bozulma olduğunda üreme fonksiyonları bozularak fertilite düşer ve hatta sterilite görülür. HPG ekseninin çalışmasını kontrol eden diğer bir sistemde monoaminerjik sistemdir. Dopamin gibi nöromediyatörler LH salınmasını inhibe ederken, norepinefrin ve serotonin gibi diğerleri sadece LH salınmasını uyarmakla kalmaz aynı zamanda GnRH eksenini üzerinden direk olarak ta etki eder. Mevsimsel faktörler ve diğer faktörler hipotalamik ve hipofiziyer monoaminlerin görevlerini indükleyebilir. Hipofiz ve hipotalamus seviyesinde GnRH salınmasının ve sentezinin değiştirilmesi eşey steroidleri, fizyolojik evre ile bunların negatif ve pozitif geri bildirim etkilerine bağlıdır. Östrojenler başlıca ovaryum folikülleri, korpusluteum, plasenta ile ikinci derecede ve daha az olmak üzere karaciğer, meme bezi, adrenal bez ve yağ dokusunda üretilen steroid hormonlardır. EE₂ en etkili östrojendir. Başlıca etkileri üreme, farklılaşma ve üreme organları olmayan kemik, karaciğer, kas, kardiyovasküler sistem ve beyin üzerinedir (Şekil 2.2) (Atamanalp

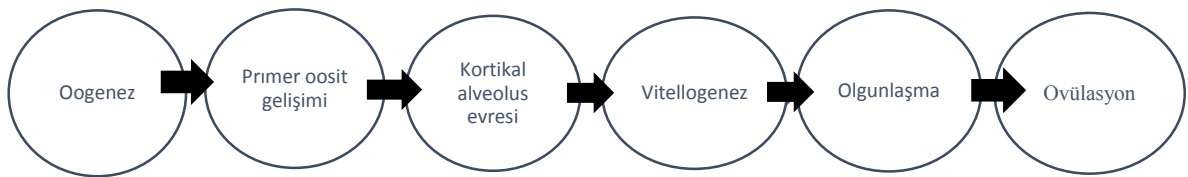
ve Cengiz, 2002; Andersson ve diğerleri, 2007; Hachfi ve diğerleri, 2012; Puy-Azurmendi ve diğerleri, 2013).



Şekil 2.2. EDC'lerin üreme sistemine etkisi (Hachfi ve diğerleri, 2012).

2.7. Balıklarda Vitellogenesis

Oosit büyümesi ve gelişimi balıklarda ve balıkçılık biyolojisinde çok önemli bir konudur. Ovaryum gelişimini etkileyen başlıca hormonlar gonadotropin, tiroid hormonlar, büyüme hormonu, insülin ve insülin benzeri büyüme faktörleridir. Genetik ve beslenme ise fekunditeyi etkileyen başlıca etkenlerdir. Deniz ve tatlısu ortamlarında 20 000'den fazla teleost balık türü bulunmakta, bunlarında üreme stratejileri farklılık göstermektedir (Tyler ve Sumpter, 1996). Oositin gelişimi aşağıda şematik olarak gösterilmiştir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Oosit gelişimi

Vitellogenenez süresince kemikli balıklarda GSI 50 - 100 katı değerine ulaşır. Oositler vitellojenik gelişim evresine girmeden önce belirli bir minimum büyüklüğe ulaşmaları gereklidir. Ancak bundan sonra vitellogenini alabilirler. Vitellojenezde ovaryum gelişiminde ovaryum dışı proteinler tanınır, işlenir ve oosit içinde paketlenir. Karaciğerde sentezlenen plazma öncülü VTG yumurta sarısı proteinlerinin tek öncülü değildir. Değişik balıklarda büyüklüğü, şeker ve fosfor oranı farklılık gösterir. VTG sentezi, ovaryumlardan dolaşıma salınan östradiol-17 β , EE₂ hormonuna cevap olarak başlar. VTG gelişmekte olan oositin ihtiyacı olan aminoasitler, enerji, lipid ve kalsiyumun tamamını olmasa da büyük kısmını karşılar. Fertilizasyondan sonra da yavrunun besin keseli evresinde enerji rezervinin önemli bir kısmını sağlar (Blaise, Gagné, Pellerin ve Hansen, 1999). Bütün ovipar omurgalılar gibi teleost balıklarda da VTG'nin ovaryumlara alınması reseptör-aracılı endositoz ile gerçekleşir. VTG reseptörleri oosit membranında yerleşiktir. Bağlanma yerinin afinitesi yüksektir ve yaklaşık 100 kDa büyüklüğündedir. Vitellojenezin başlaması ile plazma VTG düzeyleri hızla yükselir ve gelişim evresi boyunca yüksek kalır. Vitellojenez süresince VTG dışında muhtelif plazma lipoproteinleri de dolaşımda bulunur (Allner ve diğerleri, 1999; Tyler and Sumpter, 1996).

Diğer ovipar omurgalılarda olduğu gibi balıklarda da östrojene bağlı maruziyetin takibinde sarısı oluşan yumurtaların üretimi vitellojenez ile yapılmaktadır. Vitellojenez de bir yumurta sarısı proteini öncülü olan vitellogeninin (VTG) karaciğerde sentezlenmesi ve daha sonra gelişmekte olan oositler tarafından alınmasıdır. VTG'nin üretimi östrojene bağımlıdır, dolayısı ile dişilerle sınırlıdır. VTG erkek balıkların plazmasında normalde çok düşük düzeyde bulunmaktadır. Erkek balıklarda VTG geni bulunur, ancak ekspresyonu için hem doğal hem de sentetik östrojenlere maruz kalarak tetiklenmesi gerekir. Erkek Gökkuşaağı Alabalıklarının östrojenik ksenobiyotiklere maruziyeti sonucunda tamamen erişkin dişilerin plazmasından çok daha yüksek VTG düzeyleri bildirilmiştir. Erkeklerde VTG'nin kontrollü deneyler ile maruziyette artması balıklarda östrojene maruz kalmanın tayini için çok hassas bir biyodeney geliştirilmesini sağlamıştır (Tyler ve diğerleri, 1996). Benzer şekilde juvenil balıklarda da VTG varlığının gösterilmesi EDC aktivitesinin tayini için sıklıkla kullanılan bir biyobelirteçtir. VTG plazmadan başka mukusta da bulunmaktadır. EDC'lere maruziyette biyobelirteç olarak mukus VTG'si ve yumurta kabuğu Zona radiata proteinleri (Zr-proteinleri) son yıllarda kullanılmaktadır. Görüldüğü gibi çevresel kirleticiler adeta bir "Kirletici Çorbası" karışımı olarak ekosistemdeki canlıları etkilediğinden, EDC aktivitesi gösterenler kimyasal yapıları ve fizikokimyasal

yapıları bakımından çok farklı olduklarından tek bir deney ile östrojenik aktiviteyi belirlemek ancak juvenil ve erkek balıklarla yapılan biyodeneylemlerle mümkün olabilmektedir (Asturiano ve diğlerleri, 2005; Andersson ve diğlerleri, 2007; Arukwe ve Røe, 2008).

Ticari pelet balık yeminin steroidler ve/veya fitoöstrojenler içerebileceğı ve bunun da VTG sentezini indükleyebileceğı deneysel olarak erkek *Pimephales promelas* ve *Carassius auratus* bireylerinin plazmalarında VTG varlığı ile gösterilmiştir (Tyler ve diğlerleri, 1996). Beş farklı seviyede (içlerindeki total isoflavon miktarlarına göre 0, 250, 500, 1 000 ve 10 000 mg/kg) hazırlanan ticari soya fasulyesi ekstraktları *Cyprinus carpio* dişi ve erkek bireylerine verilerek fitoöstrojen konsantrasyonlarının vitellogenin sentezine etkisini belirlemek için test edilmiştir. Daha ileri seviye dozlardaki isoflavonlar hem erkek hem de dişi balıklar için daha çok vitellogenin üretilmesine sebep olmuştur. Bu çalışma sonucunda fitoöstrojen içeren soya fasulyesi ekstraktları ile hazırlanan yemler verilen dişi ve erkek balıklarda vitellogenin üretiminin indüklenmesi görölmüştür (Türker ve Bozcaarmutlu, 2009).

2.8. Vitellogenin ve Biyokimyası

Çok farklı balık türlerindeki VTG'lerin N-terminal aminoasit sekansında iyi korunmuş bölge bulunmaktadır (Tyler, ve diğlerleri, 1996). Vitellogenin büyük kompleks ve kalsiyum bağlayıcı fosfolipoglikoproteindir. Karaciğerde östrojen etkisi altında VTG sentezi ve ovaryuma kan ile taşınması olayı müdahale edilmediğı sürece dişi balıklarda gerçekleşir. Vitellojenik oositlerde başlıca iki grup yumurta sarısı proteini bulunur. Bunlar lipovitellinler (Lv) ve fosvitinin (Pv) dahil olduğı fosfoproteinlerdir. Bu yumurta sarısı proteinlerine ilaveten VTG'den türevlenen C-terminal peptit ve Lv-Pv kompleksi bulunmaktadır. Teleostların oosit gelişiminde (Şekil 1.3) gen klonlaması ve immünolojik biyokimyasal analizler sonucunda balıkların birden çok VTG formuna sahip olduğı, bunların da başlıca üç tipinin transkripsiyon seviyesinde eksprese olduğı bulunmuştur (Amano ve diğlerleri, 2009). Tanımlanmış yumurta sarısı proteinlerinin hepsi olmasa da çoğı VTG'den türevlenir (Tyler and Sumpter, 1996). Erkek ve juvenil balıklarda ise eser miktarda VTG bulunabilir. Östrojen reseptörleri östrojenleri bağlayarak VTG sentezini düzenler ancak başka bazı analog molekülleri de hatta steroid olmayan bileşikleri de bağlayabilir. İlaç metabolize eden karışık fonksiyonlu oksidazlar (MFO) değışik P450

genleri tarafından kodlanan aromataz enzimi kseno-östrojenlerin etkilerine hassastır. Cyp19 geni aromatazlar balıklarda eşeyin belirlenmesi ve farklılaşmasında önemli rol oynar; östrojenik steroid hormonların androjenlerden sentezlenmesinden sorumludur. İki izoformu bulunur. Biri beyinde diğeri ovaryumdadır (Puy-Azurmendi ve diğeri, 2013). EDC aktivitenin belirlenmesinde VTG'nin iyi bir biyobelirteç olduğu ve diğeri çevresel kirleticilerin biyobelirteci olarak kullanılan sitokrom P450A1 indüksiyonu, DNA hasarı, asetilkolinesteraz aktivitesi ve metalotiyonein indüksiyonu ile birlikte kullanılmaktadır. Ankley ve diğeri (2009) vitellogeninin biyobelirteç olarak kullanımının ön deney olarak kısa süreli in vitro ve in vivo deneylerle desteklenmesini potansiyel EDC aktivitesi yönünden daha iyi değerlendirilebileceğini bildirmişlerdir.

2.9. Çalışmanın Amacı

Bu çalışma ötrofik statüde yer alan ve Ankara'nın en önemli rekreasyon alanını oluşturan Mogan Gölünde yaşayan ekonomik balık türleri üzerinde yapılmıştır. Bu türler Cyprinidae ve Esocidae familyasına ait olup, yabancı balık popülasyonları üzerine kirleticilerin etkilerinin araştırılmasında uygun boyda olmaları, kolay adaptasyonları ve geniş yayılım göstermelerinden dolayı tercih edilmektedirler. Bu bağlamda sucül çevreye östrojenik kimyasalların etkileri özellikle Cyprinidae familyasına ait balık türlerinde farklı araştırmacılar tarafından da kapsamlı olarak çalışılmıştır. Avrupa nehirleri ve iç sularında *Rutilus rutilus*, *Scardinius erythrophthalmus*, *Phoxinus phoxinus* ve *Gobio gobio* ekotoksikolojik çalışmalarda farklı su sistemlerinde durum tespiti amacıyla kullanılmıştır. Cyprinidae familyasında *Pimephales promelas* ve *Brachydanio rerio* gibi diğeri iki türü de özellikle laboratuvarında yürütülen ekotoksikoloji çalışmalarında kullanılmaktadır. Türkiye içsularında Cyprinidae familyası türleri fazlaca bulunmakta ve tüm su kaynaklarımızda temsil edilmektedir. Esocidae familyası üyelerinden *Esox lucius* da Türkiye içsularında geniş bir yayılım göstermektedir ve ekonomik öneme sahiptir. Bu nedenle kolay ulaşılabilirlik Cyprinidae ve Esocidae familyasına ait türlerin bilimsel çalışmalarda kullanılmasını teşvik etmektedir. Tatlısu ve deniz suyu kaynaklarında EDC'ler ve doğal östrojenler iz miktarda bulunmalarına rağmen sucül ekosistemlerin indikatör canlısı olan balıkların kanında VTG gibi östrojen bağımlı proteinlerin gösterilmesi ekotoksikolojik risk değerlendirmesinde önemli bir yaklaşım olarak belirtilmektedir (Allner ve diğeri, 1999). Bu nedenle Mogan Gölü ekonomik balık türlerinde ekotoksikolojik etkilerin VTG analizi ile tespiti amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Alanı

Bu çalışma, Ankara'nın güneyinde yer alan, en önemli rekreasyon alanını oluşturan Mogan gölünde gerçekleştirilmiştir. Mogan Gölü, Ankara'nın güneyinde 39.530 kuzey enlemi 33.000 doğu boylamında yer alan sığ bir tatlısu gölüdür. Ankara'ya 20 km. uzaklıkta yeralan Gölbaşı İlçesinde bulunan Mogan Gölü uzun yıllar boyunca avcılık, çeşitli su sporları ve rekreasyon alanları ile ön planda olmuştur. Göl mevsimsel değişimler doğrultusunda yaklaşık olarak 4.77-7.72 km² arasında alana sahiptir. Gölün ortalama derinliği 2,1-3,5 m arasındadır. Göl Sukesen, Başpınar, Yavrucak ve Çölovası Dereleri'nden gelen sular ile beslenmektedir. Mogan Gölü suyunu Eymir Gölü'ne boşaltmaktadır. Eymir Gölü de sularını İmrahor Deresine boşaltmaktadır. İmrahor Deresi'ne boşaltılan sular ise Ankara içerisinde akım yapan İncesu Deresi vasıtasıyla Ankara Çayı'na ulaşmaktadır (Yenilmez, Keskin ve Aksoy, 2010).

Gölün seçiminde şehirleşmenin, tarımsal ve endüstriyel faaliyetlerin yoğun olması dolayısıyla kirlilik potansiyelinin görüldüğü ötrofik bir göl olması ve gölde ekonomik balık türlerinin bulunması önemli olmuştur. Çalışma sahasında kirliliğin ilk tespit edilebileceği alan canlıların yaşam alanı olan su ortamıdır. Mogan Gölü'nde istasyonlar kirlilik yaratabileceği muhtemel olan insanların yaşam alanlarına, tarım alanlarına ve sanayi alanlarına yakın noktalara göre seçilmiştir. Bu sebeple Mogan Gölü üzerinde toplam 4 adet istasyon belirlenmiştir (Resim 3.1). Belirlenen istasyonlara ait koordinatlar aşağıda verilmiştir.

1. İstasyon K 39° 47' 38'' D 32° 47' 58''
2. İstasyon K 39° 47' 8'' D 32° 48' 11''
3. İstasyon K 39° 45' 7'' D 32° 46' 47''
4. İstasyon K 39° 46' 10'' D 32° 47' 5''



Resim 3.1. Mogan Gölü'nde seçilen istasyonların görünümü

3.2. Su Numunesi Alınması

Belirlenen istasyonlardan ekonomik balık türlerinin üreme dönemlerine denk gelen Ocak, Şubat, Mart, Nisan ve Mayıs 2013 aylarında her ay su örnekleri alınmıştır. Su analizleri için numune kapları hazırlanmıştır. Numune kapları arazi çalışmasından önceki gün %1'lik HCl banyosundan geçirilmiş, sonra distile sudan geçirilerek kurumaya bırakılmış ve numune almaya hazır hale getirilmiştir (Yalçın, 2009). Hazırlanan numune kapları ile her istasyondan arazi çalışması yapılan aylarda su örnekleri alınarak (Şekil 3.2) Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Hidrobiyoloji Laboratuvarı'na getirilerek analizleri yapılmıştır. İstasyonlarda sıcaklık, pH, çözünmüş oksijen, elektriksel iletkenlik, toplam çözünmüş katı madde, salinite ve basınç YSI marka arazi tipi çoklu elektrodlu oksijenmetre ile arazide ölçülmüştür. Sudaki diğer parametreler Palintest kitleri kullanılarak laboratuvarda fotometrik olarak analiz edilmiştir.



Resim 3.2. Su numunesi alınması

3.3. Balık Örneklerinin Temini ve Ölçümler

Araştırma kapsamında Ocak, Şubat, Mart, Nisan ve Mayıs aylarında her ay balık örnekleri alınmıştır. Balık örneklerinin avlanmasında çeşitli göz açıklıklarına sahip (25 cm x 25 cm, 35 cm x 35 cm, 45 cm x 45 cm, 55 cm x 55 cm) fanyalı ağlar kullanılmıştır (Yılmaz ve Gül, 2001). Ayrıca ağların toplanması sırasında balıkların canlı kalması için su içerisinde ağ kafeslerde bekletilmişlerdir (Resim 3.3).



Resim 3.3. Balıklar ve muhafaza kafesi

Balık örnekleri canlı olarak laboratuvara getirilmiştir. Balıkların total, çatal ve standart boyları mm olarak ölçülmüştür (Resim 3.4). Ağırlıkları ise ± 1 g hassasiyete sahip terazi ile tartılmıştır.



Resim 3.4. Vücut ölçümleri

3.4. Yaş Tayini

Balıkların metrik ölçümleri yapıldıktan sonra yaş tespiti için pul örnekleri alınmıştır. Pullardan yaş tespiti oldukça pratik bir yöntemdir. Her balıktan dorsal yüzgeç ile yanal çizgi arasından yaklaşık 10 adet pul örneği alınmıştır. Pullar %4'lük KOH içerisinde 24 saat bekletildikten sonra distile su ile yıkanarak tüm doku parçalarından arındırılmıştır. Fazla suyun alınması için de %70'lik alkolden geçirilerek lamalar arasına koyulmuştur. Hazırlanan preparatlar binoküler mikroskopta incelenerek yaşlar saptanmıştır (Resim 3.5) (Lagler, 1956; Chugunova, 1963; Duman ve Şen, 2002).



Resim 3.5. Binoküler mikroskopta *C. carpio* pul görüntüsü

3.5. Kan Alma

Balıklarda kan örnekleme işlemlerinde dikkat edilmesi gereken en önemli husus, balığın sudan çıktıktan hemen sonra kan alma işleminin yapılmasıdır. Kan örnekleri alınacak balıkların su dışında kan alma işlemine kadar geçen süre balıklar için stres faktörünün yükselmesine sebep olacaktır. Bu durumda kandaki trombosit miktarı oldukça artacak ve kan alma işlemi zorlaştıracaktır. Bu sebeple örnekleme işlemine geçilmeden önce, kan alınırken kullanılacak tüm araç ve gereçler hazır hale getirilmiştir. Kanın pıhtılaşmasını engellemek için iç yüzeyi tamamen heparinlenmiş 5 ml'lik enjektörler kullanılmıştır (Atamanalp, Bayır, Sirkecioğlu ve Cengiz, 2003). Bu işlem sırasında balıkların kaudal venadan kan örnekleme sırasında Quinaldin (25 mg/L) ile anestezi uygulanarak acı hissi yok edilmiştir (Kubilay ve Uluköy, 2002; Keleştemur ve Özdemir, 2010).

Her örnekten hematokrit testi, mikronükleus tespiti ve vitellogenin analizi için Kaudal venaya enjektör yardımı ile girilerek kan alınmıştır (Resim 3.6) (Atamanalp ve diğerleri, 2003).



Resim 3.6. Kaudal vena'dan kan alımı (*E. lucius*)

3.6. Hematokrit Analizi

Hematokrit testi için alınan kan örneği 1,1 mm çapında 75 mm uzunluğundaki heparinli S&H Labware marka kılcal hematokrit tüplerine alınarak tüplerin bir ucu macunlanıp kapatılmıştır. Kılcal hematokrit tüplerine alınmış olan kanlar % hematokrit oranları tespiti için Hettich Marka Hematokrit santrifüjünde 11500 rpm.'de 4 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonuçları skalaya göre değerlendirilerek % hematokrit oranı tespit edilmiştir.

(Altun ve Diler, 1999; Atamanalp ve Cengiz, 2002; Atamanalp, Kocaman ve Canyurt, 2002).

3.7. Eritrosit Mikronükleus Testi

Her balığa ait kan örneğinden 10µl kan lam üzerine yayılmış ve havada kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan preparatlar 20 dakika süresince %95'lik etanol ile fiksasyona tabi tutulmuştur. Fiksasyon sonrasında kurutulan preparatlar %5'lik giemsa boya ile 20 dakika boyanmıştır. Boyama işleminden sonra distile su ile yıkanarak fazla suyun uzaklaşması sağlanmıştır. Hazırlanan preparatlar Leica CME marka ışık mikroskopunda incelenerek 1000 eritrosit sayımı yapılmıştır. Kan hücrelerindeki mikronükleus ve morfolojik nükleus sayıları belirlenmiştir (Arslan ve diğerleri, 2011).

3.8. Elektroforez Yöntemi ile Vitellogenin Analizi

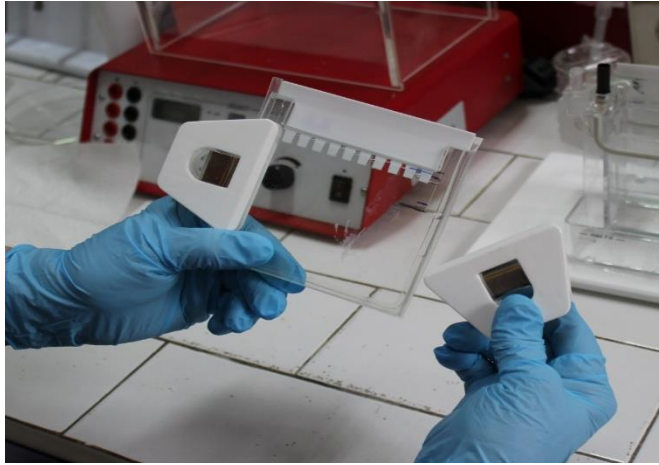
Balık örneklerinden alınan kan örnekleri soğutmalı eppendorf santrifüjünde plazması ayrılarak vitellogenin analizi için hazır hale getirilmiş ve protein yapısının bozulmaması için -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

Deneyde plazma içerisindeki her bir proteinin, molekül ağırlıklarına göre, jel üzerinde tek bant oluşturabilmesine imkân veren Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE) metodu ve bu metot için Biometra marka dikey elektroforez cihazı kullanılmıştır (Resim 3.7). Bu metotta proteinler Sodyum dodesil sülfat (SDS) varlığında hazırlanan jel üzerinde yürütülmektedirler. Alınan kanlar 1/10 oranında sulandırılarak protein yoğunluğu azaltılmıştır (Allner ve diğerleri, 1999; Asturiano ve diğerleri, 2005; Chu-Koo ve diğerleri, 2009).



Resim 3.7. Biometra marka dikey elektroforez cihazı

Cam plakalar sırası ile %70'lik etanol ve distile su ile temizlendikten sonra ortam sıcaklığında kurumaya bırakılmışlardır. Kuruyan cam plakalar aralarında yaklaşık 0,75 mm boşluk kalacak şekilde ve iki plaka arası sızdırmaz lastik tampon ile birbirine tutturulup dik halde plaka tutucuya yerleştirilmiştir (Resim 3.8).



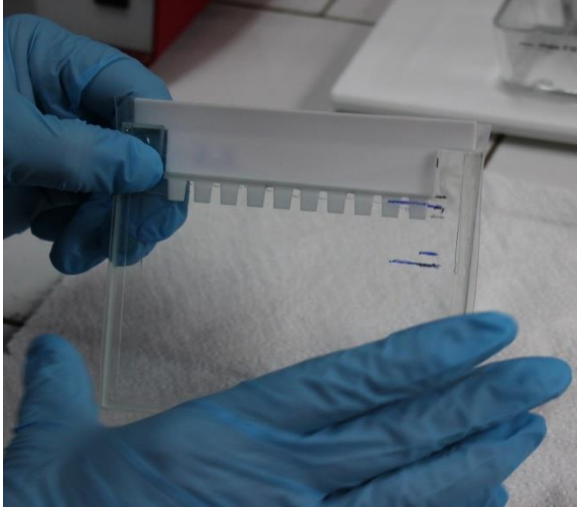
Resim 3.8. Cam plakaların jel dökümü için hazırlanması

Jeller dökülmeden önce 5 kez konsantre yürütme tamponu hazırlanmıştır. Deney sırasında optimum manyetik yürütmenin sağlanabilmesi için konsantre yürütme tamponu 1/5 oranında distile su ile seyreltilmiştir. Konsantre yürütme tamponu için 400 ml distile su içerisine 6 g Tris (Merck marka), 28,8 g Glisin (Merck marka) ve 2 g SDS (Sigma L4390 marka) koyularak manyetik karıştırıcı ile tüm maddelerin su içerisinde çözülmesi sağlanmıştır. Hazırlanan tamponun pH'ı 8,3 olacak şekilde ayarlanmıştır. pH'ı ayarlanan yürütme tamponunun hacmi distile su ile 500 ml'ye tamamlanmıştır.

Deneylerde %10'luk ayırıcı jel bileşiminde kullanılmak üzere 1,5 M Tris-HCl çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözelti için 23,4 g Tris-HCl hassas terazide tartılarak 75 ml saf su içerisinde çözündürülmüştür. pH 8,8 olacak şekilde ayarlandıktan sonra hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır. %5'lik yükleme jelinde kullanılmak üzere 1M Tris-HCl tamponu hazırlanmıştır. Bu tampon için 15,6 g Tris-HCl hassas terazide tartılarak 75 ml saf su içinde çözündürülmüştür. pH 6,8' e ayarlanarak hacim önceki çözeltideki gibi 100 ml'ye tamamlanmıştır.

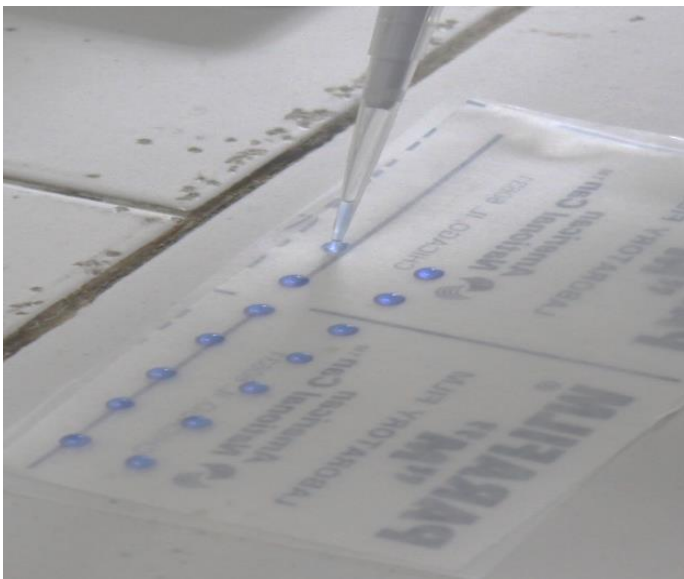
Cam plakalar içerisinde jellerin polimerizasyonun gerçekleşmesinde görev yapacak olan SDS ve APS hacmen %10 luk hazırlanmıştır. Alt jel hacmen %10'luk şekilde hazırlanmıştır. Bunun için sırası ile 4 ml distile su içerisine 3,3 ml bis-akrilamid jel karışımı, 2,5 ml 1,5 M Tris-HCl tamponu, 100 µl %10'luk SDS ve 100 µl %10'luk APS katılarak karıştırılmıştır. Polimerizasyonun hızını artırmak için 5 µl TEMED katılarak zaman kaybetmeden pastör pipet kullanılarak cam plakalar arasına kısa ucun yaklaşık 2 cm altında kalacak şekilde dökülmüştür. Ayırıcı jelin jelleşme süresinde kurumaması için jellerin üst yüzeyini tamamen kaplayacak biçimde suya doyurulmuş bütanol ilave edilmiştir. 20 dakika içerisinde polimerizasyon tamamlanmış ve bütanol ortamdan uzaklaştırılarak yükleme jeli yine pastör pipet ile yürütme jeli üzerine zaman kaybetmeden dökülmüştür.

Yükleme jeli hazırlanırken hacmen %5 olarak hazırlanmıştır, bunun için 6,8 ml distile su içerisine 1,7 ml bis-akrilamid jel karışımı, 1,25 ml 1M Tris-HCl tamponu, 100 µl %10'luk SDS ve 100 µl %10'luk APS koyulmuştur. Polimerizasyonun hızlanması için 10 µl TEMED eklenmiştir. Üst jel döküldükten hemen sonra yükleme kuyularının oluşabilmesi için plastik taraklar, yükleme kuyularında hava kabarcığı kalmayacak şekilde yerleştirilmiş ve jelleşmenin sağlanması için 30 dakika beklenmiştir (Resim 3.9).



Resim 3.9. Jellerde kuyu oluşumu için tarakların yerleştirilmesi

Taraklar jele zarar vermeden çıkarılmıştır. Kuyular içerisinde kalan sıvılar kurulama kâğıdı ile kuyu duvarlarına zarar vermeden kurulanmıştır. Daha önce hazırlanmış olan dilüe edilmiş yürütme tamponu jellerin en az 3 cm üstünde kalacak şekilde dökülmüştür. Her jel de 1. kuyuya Marker (Page Ruler) koyulmuştur. Diğer jeller için her yükleme kuyusuna farklı örneğe ait kan plazması olmak üzere 3 μ l protein ile 7 μ l boya karıştırılarak yüklenmiştir (Resim 3.10, Resim 3.11). Son olarak elektrik akımı 70 Amper ve 140 Volt olacak şekilde başlatılarak proteinlerin jel içerisinde yürütülmesi işlemi başlatılmıştır. Yürütme işlemi jelin alt ucundan 1 cm kadar yükseklikteyken sonlandırılmıştır.



Resim 3.10. Boya ve proteinin karıştırılması



Resim 3.11. Proteinlerin kuyulara yüklenmesi

Protein yürütme işleminin ardından jeller yırtılmamasına özen gösterilerek cam plakalardan çıkarılmıştır. Çıkarılan jeller proteinlerin jelde sabitlenmesi için 40 dakika fiksatifte tutulmuştur. Fiksatif hacmen 200 ml Metanol, 35 ml Glasiyel Asetik Asit koyularak distile su ile 500 ml'ye tamamlanır.

Fiksatiften çıkarılan jeller boyaya alınmış ve 30 dakika boyada tutulmuştur. Boya olarak Coomassie Brilliant Blue R250 kullanılmıştır (Allner ve diğerleri, 1999). Bu boyama tekniği ucuz ve kolay uygulanabilir olduğu için tercih edilmiştir. Boyamadan sonra sadece proteinlerin boyalı kalması istendiğinden jel içerisindeki fazla boya uzaklaştırılmalıdır. Bu işleme destaining adı verilir. Bu amaçla 400 ml distile su içerisine 50 ml Glasiyel Asetik Asit ve 250 ml Etanol koyulmuş ve karışmaları sağlanmıştır. Destaining çözeltisi ilk 1 saat içerisinde 15 dakika aralıklar ile 3 kere değiştirilmiştir. Son olarak koyulduğu destain çözeltisinde 1 gece Biosan Multi Bio 3D marka karıştırıcıda tutulmuştur (Resim 3.12). Amaç jelin ve destain çözeltisinin sürekli hareketli olmasını ve çözeltinin jelin her noktasında çalışmasını sağlamaktır. Jellerin ışık tablasında Canon EOS 550D Marka fotoğraf makinesi ile fotoğrafları çekilmiştir.

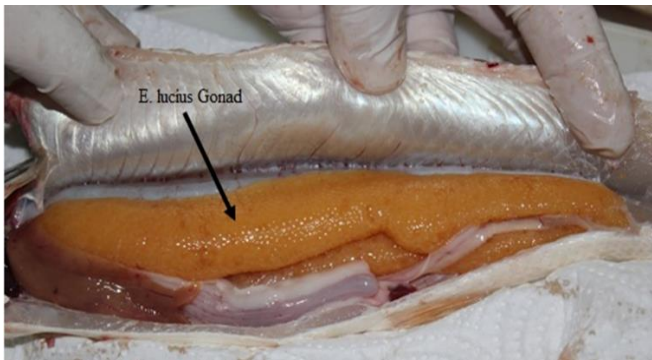


Resim 3.12. Biosan MultiBio 3D karıştırıcı

3.9. Histolojik İnceleme

Kan örneklerinin alınmasından sonra balıklarda diseksiyon yapılarak bazı dokuları (solungaç, kas, deri, karaciğer, periton, böbrek, sindirim sistemi ve gonad) alınmıştır.

Gonadlardan cinsiyet tayini yapılmıştır (Resim 3.13). Alınan doku örnekleri %10'luk formalin çözeltisinde tespit edilmiştir. Histolojik inceleme çalışmaları Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapılmıştır.



Resim 3.13. *E. lucius* gonadı

Balık örneklerinden çıkarılan dokular fiksatifin daha iyi nüfuz etmesi için küçük parçalara ayrılıp kasetlere yerleştirilmiştir. Doku hacminin yaklaşık 10 katı kadar miktarda %10'luk formalin çözeltisinde muhafaza edilmiştir (Diler ve Özen, 2002; Temelli ve Kurt, 2012).

Formalin içerisindeki dokular standart doku takibi ile incelemeye alınmıştır. Yaklaşık 1 hafta fiksasyona tabi tutulan dokular şebeke suyunda Leica Marka doku takip cihazında 12 saat kadar yıkamaya ve dokuya giren suyun uzaklaştırılması içinde giderek artan oranda (%50 - %70 - %96 - absolü) etil alkol serisinden geçirilmiştir. Dokulara giren fazla suyun uzaklaştırma işlemi bittikten sonra dokuların daha rahat incelenmesini sağlamak için ksilol ile parlatılarak parafine alıştırılmıştır. Dokular bir gece boyunca 56 °C'lik etüvde bekletilmiş ve ertesi sabah sıvılaştırılmış parafine gömülmüştür. Özellikle balık dokuları çok hassas olduklarından erimiş parafin içerisinde yanmasını önlemek için 30 dakika doku takip cihazında işleme alınmıştır. Hazırlanan parafin bloklarından ThermoShandon Finnesse 325 marka rotary Mikrotom ile 5-10 mikron kalınlığında ince kesitler alınmıştır. 37 °C suda kesit alma işlemi sırasında meydana gelen kırışıklıkların açılması sağlanmış lam üzerine alınan doku kesitleri parafinin tekrar erimesi ve dokunun lam üzerine yapışması için 56 °C sıcaklıkta etüvde 50 dakika tutulmuştur (Temelli ve Kurt, 2012).

Dokuların lam üzerine sabitlenmesinden sonra boyama işlemine geçilmiştir. Boya olarak Hematoxylin-Eosin genel doku boyası kullanılmıştır. Bu boyanın temel özelliği çekirdeğin maviye, sitoplazmanın ise pembeye boyanarak mikroskop incelemesinde zıt renkler yardımı ile belirginlik sağlamasıdır. Boyama sonrası entellen damlatılarak hava kabarcığı kalması engellenerek lamel kapatılmıştır (Temelli ve Kurt, 2012; Arda, 2011). Dokuların analizinde kolaylık sağlaması açısından mikroskop görüntüleri dijital ortama aktarılmıştır. Hazırlanan preparatlar Olympus Marka ışık mikroskopunda incelenerek resimleri Canon EOS 550D Marka fotoğraf makinesi ile çekilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Su Analiz Sonuçları

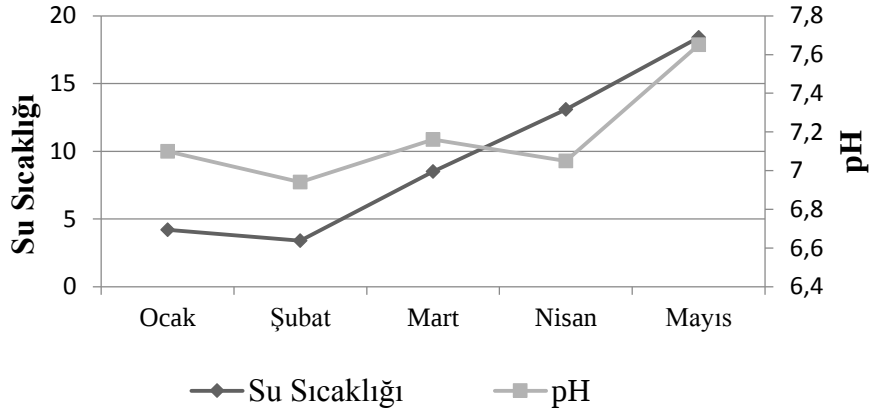
Mogan Gölü'nde farklı istasyonlardan elde edilen su parametre sonuçları ile ulusal ve uluslararası referans değerleri Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Su kalite parametreleri ölçüm sonuçları

Su kalite parametreleri	Ölçüm sonuçları Ortalama (mg/L)	TSE 266, 2005	WHO, 1996	USEPA, 2002	YSKYY, 2012 (2. sınıf)
Sıcaklık °C	9,52	-	-	-	25
pH	7,18	6,5-9,5	-	-	6,5-8,5
Çözülmüş Oksijen (DO)	8,94	-	-	-	6
Basınç (mmHg)	674,36	-	-	-	-
Elektriksel İletkenlik (C) (µS/cm)	1335,60	2500	-	-	-
Toplam Çözülmüş Katı Madde (TDS)	805,14	-	-	-	1500
Salinite (ppt)	0,94	-	-	-	-
Alkanite (CaCO ₃)	350,00	-	-	-	-
Brom (Br)	0,12	-	-	-	-
Bakır (Cu)	0,59	2	2	1,30	0,05
Çinko (Zn)	0,11	-	5	5	0,50
Demir (Fe)	0,03	-	-	-	-
Flor (F)	1,37	1,50	1,50	2	1,50
Fosfat (PO ₄)	41,44	-	-	-	-
Kalsiyum (Ca)	35,52	-	300	-	-
Klor (Cl)	0,14	250	250	250	200
Krom (Cr)	0,03	0,05	0,05	0,05	0,02
Magnezyum (Mg)	72,40	-	-	-	-
Mangan (Mn)	0,00	0,05	0,50	-	0,05
Nitrat (NO ₃)	0,31	50	-	-	10
Nitrit (NO ₂)	0,10	0,50	-	-	10
Nikel (Ni)	0,07	0,02	0,02	-	0,05
Potasyum (K)	5,80	-	-	-	-
Sülfat (SO ₄)	178,00	250	-	-	-
Toplam Sertlik (CaCO ₃)	228,00	-	500	-	-

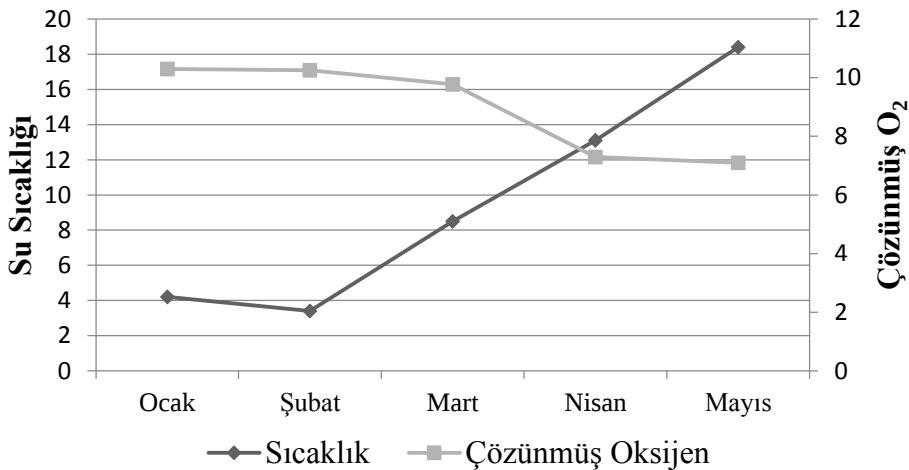
Su sıcaklığının mevsimsel geçiş sebebi ile ısınma eğiliminde olduğu görülmüştür. Su sıcaklığında en yüksek değer Mayıs ayında 18,4 °C, en düşük değer ise Şubat ayında 3,4 °C ölçülmüştür. Mogan Gölü'nün Ocak-Mayıs ayları arası ortalama su sıcaklığı ise 9,52 °C olarak hesaplanmıştır.

Mogan Gölü'nün pH değerleri 6,94 ile 7,25 değerleri arasında ölçülmüştür. Sıcaklık artışı ile pH değişimleri birbirine paralel yönde değişiklik göstermiştir (Şekil 4.1). Sadece Nisan ayında pH değeri sıcaklık artışı ile aynı doğrultuda artmayıp farklılaşma göstermiştir.



Şekil 4.1. Su sıcaklığı-pH ilişkisi

Çözünmüş oksijen değerleri en yüksek Ocak ayında 10,30 mg/L, en düşük ise Mayıs ayında 7,1 mg/L olarak ölçülmüştür. Mogan Gölü'nün ortalama çözünmüş oksijen değeri 8,94 mg/L tespit edilmiştir. Sıcaklık ile çözünmüş oksijen değerleri arasında ters yönde bir değişim olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.2).

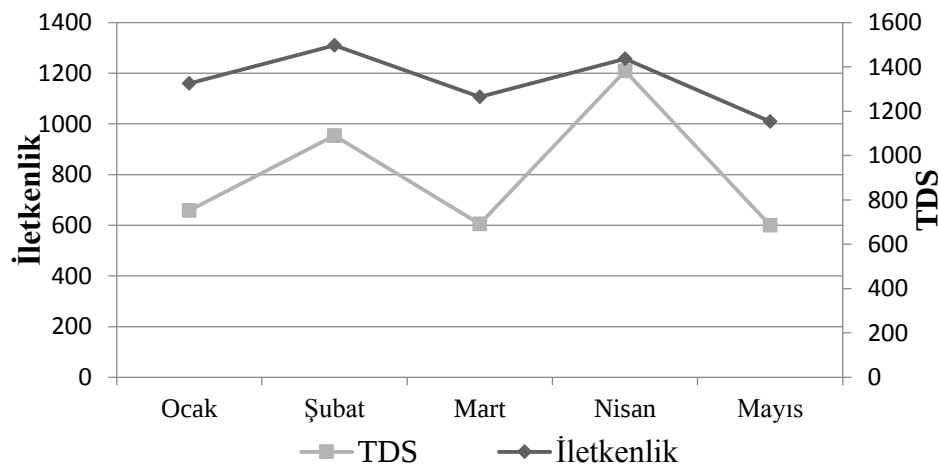


Şekil 4.2. Su sıcaklığı-Çözünmüş O₂ ilişkisi

Basınç değerinde aylar itibari ile önemli bir değişiklik görülmemiştir. Basıncın en yüksek değeri Mayıs ayında 678,1 mmHg ve en düşük 672,1 mmHg Mart ayında ölçülmüştür. Ortalama basınç değeri ise 674,36 mmHg olarak hesaplanmıştır.

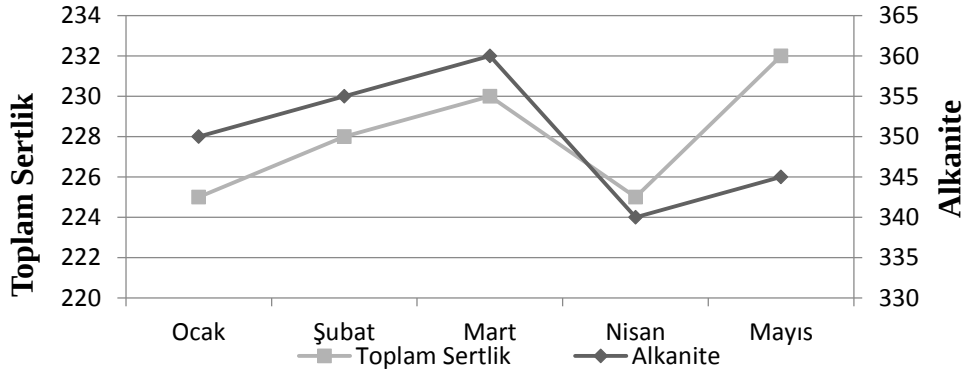
Mogan Gölü'nün elektriksel iletkenlik değeri ortalama 1335,6 $\mu\text{S}/\text{cm}$ olarak hesaplanmıştır. En yüksek değer Şubat ayında 1497 $\mu\text{S}/\text{cm}$ en düşük değeri ise Mayıs ayında 1154 $\mu\text{S}/\text{cm}$ tespit edilmiştir. TDS (Toplam Çözünmüş Katı Madde) miktarı ortalama 805,14 mg/L hesaplanmış olup, en yüksek Nisan ayında 1209 mg/L, en düşük Mayıs ayında 600 mg/L ölçülmüştür. İletkenlik değeri sudaki iyon halde bulunan çözünmüş maddelerden ileri gelir. Bu durumda da TDS ile yakından ilişkilidir. Bu iki parametrenin karşılaştırılması Şekil 4.3'te görülmektedir. Grafikten de anlaşılacağı gibi TDS miktarı ve iletkenlik birbiri ile uyumlu bir değişim göstermektedir.

Salinite değeri en yüksek Mart ayında 0,99 ppt, en düşük Ocak ayında 0,87 ppt olarak ölçülmüştür. Tüm ölçümler sonucunda ise Mogan Gölü için salinite değeri ortalama 0,94 ppt olarak hesaplanmıştır. Ölçüm yapılan aylar itibariyle salinite değerlerinde önemli düzeyde bir değişim olmadığı anlaşılmıştır.



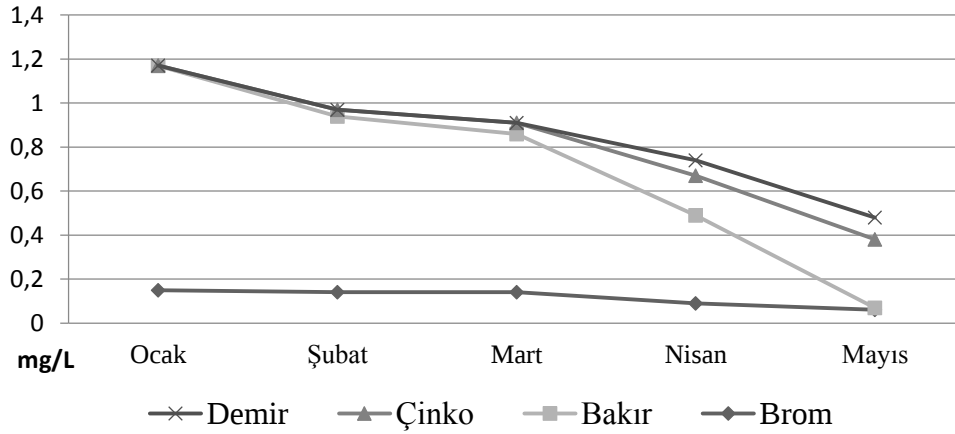
Şekil 4.3. Elektriksel iletkenlik-Toplam çözünmüş katı madde ilişkisi

Mangan ölçüm sınırlarının altında olduğu için saptanamamıştır. Alkanite en düşük Nisan ayında 340 mg/L en yüksek Mart ayında 360 mg/L değerine ulaşmıştır. Ortalama değer 350 mg/L olarak hesaplanmıştır. Sucul ekosistemlerde Alkanite ve toplam sertlik değerlerinin genel olarak paralellik gösterdiği belirtilmektedir (Tepe, Ateş, Mutlu ve Töre, 2006). Mogan Gölü'nde de alkanite ile toplam sertlik değerleri değişimi paralellik göstermektedir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Toplam sertlik-Alkanite ilişkisi

Brom değeri maksimum 0,15 mg/L Ocak ayında, minimum ise Mayıs ayında 0,06 mg/L olarak ölçülmüştür. Ortalama brom değeri 0,12 mg/L olarak hesaplanmıştır. Bakır en yüksek 1,02 mg/L Ocak ayında en düşük 0,01 mg/L ile Mayıs ayında ölçülmüştür. Ortalama bakır miktarı 0,59 mg/L olarak tespit edilmiştir. Çinko seviyesi Ocak ayında 0,01 mg/L ile en düşük 0,31 mg/L ile Mayıs ayında en yüksek seviyede ölçülmüş ve ortalama değeri 0,11 mg/L olarak hesaplanmıştır. Demir Nisan ve Mayıs aylarında ölçüm sınırları dahilinde bulunmuş ve sırası ile 0,07 mg/L ile 0,10 mg/L ölçülmüştür. Brom, bakır, çinko ve demirin araştırma sürecindeki değişimleri Şekil 4.5’de görülmektedir.



Şekil 4.5. Brom, bakır, çinko ve demir değerlerinin karşılaştırması

Flor miktarı ortalama 1,37 mg/L olarak ölçülürken en yüksek değer 1,54 mg/L ile Mayıs ayında, en düşük değer ise 1,08 mg/L ile Şubat ayında saptanmıştır. Yerleşim yerlerine yakın olan su kaynaklarının kirliliği hakkında en önemli bilgi veren parametrelerden biri de fosfat değeridir. Fosfat miktarı evsel atık sularda deterjan hammaddesi olması ve organik

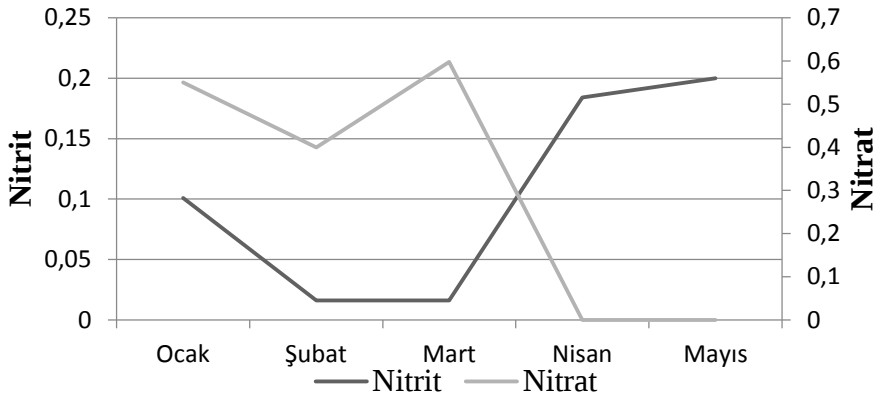
maddelerin muhteviyatında bulunması sebebi ile oldukça fazla bulunmaktadır. Fosfat değeri en düşük Mayıs ayında 20,40 mg/L, en yüksek Ocak ayında 59,70 mg/L olarak ölçülmüştür. Ortalama değerinin ise 41,44 mg/L olduğu saptanmıştır.

Kalsiyum değeri Mayıs ayında en düşük 34 mg/L, en yüksek Şubat ayında 36,4 mg/L ölçülmüştür. Ortalama kalsiyum değeri 35,52 mg/L olarak saptanmıştır. CaCO_3 değeri Mayıs ayında ise 73 mg/L ile en düşük değerde olup, Ocak ayında 100 mg/L ile maksimum değerde olduğu belirlenmiştir. Magnezyum değeri Ocak ayında 60 mg/L ile en düşük düzeyde, Mayıs ayında 87 mg/L ile de en yüksek düzeyde ölçülmüştür. Nikel sadece Şubat ve Mart aylarında rastlanmış ve sırası ile 0,09 mg/L ile 0,05 mg/L olarak tespit edilmiştir. Ortalama değeri 0,07 mg/L olup ulusal ve uluslararası referans değerlere göre yüksek bulunmuştur. Potasyum miktarı ölçüm yapılan aylarda aynı değerde 5,8 mg/L olarak ölçülmüştür.

Sülfat yerleşim yerlerine yakın bölgelerde bulunan sulara genellikle evsel ve endüstriyel (özellikle tekstil ve deri sanayii) atıklardan ya da göl tabanından karışabilir. Mogan Gölü'nde evsel ve endüstriyel bölgelerin oldukça yakınında bulunduğu için sülfat düzeyi göl için son derece önemlidir. Mogan Gölü için sülfat değeri ortalama 178 mg/L'dir. En yüksek değer Ocak ayında 183 mg/L, en düşük değer Mayıs ayında 178 mg/L olarak ölçülmüştür.

Toplam klor miktarı ortalama değeri 0,14 mg/L'dir. Referans değerlere göre oldukça düşük bulunmuştur. Krom miktarı en fazla Ocak ve Mart ayında maksimum 0,05 mg/L, Şubat ve Nisan aylarında minimum 0,01 mg/L olarak ölçülmüştür. Ortalama değeri 0,03 mg/L olup ulusal referans değerlerine göre yüksek, uluslararası değerlere göre sınıra yakın düzeyde olduğu belirlenmiştir. Mangana sadece Şubat ve Mart ayında rastlanmış olup değeri 0,001 mg/L olarak tespit edilmiştir.

Nitrit, nitrat ve amonyak değerleri ötrofik göller açısından son derece önemli su kalite parametreleridir. Nitrit için en yüksek Mayıs ayında 0,20 mg/L, en düşük değer ise Ocak ayında 0,10 mg/L olarak saptanmıştır. Nitrat için maksimum değer 0,60 mg/L ile Mart ayı olmuştur. Nisan ve Mayıs aylarında nitrat iz düzeyde bulunmuştur (Şekil 4.6).



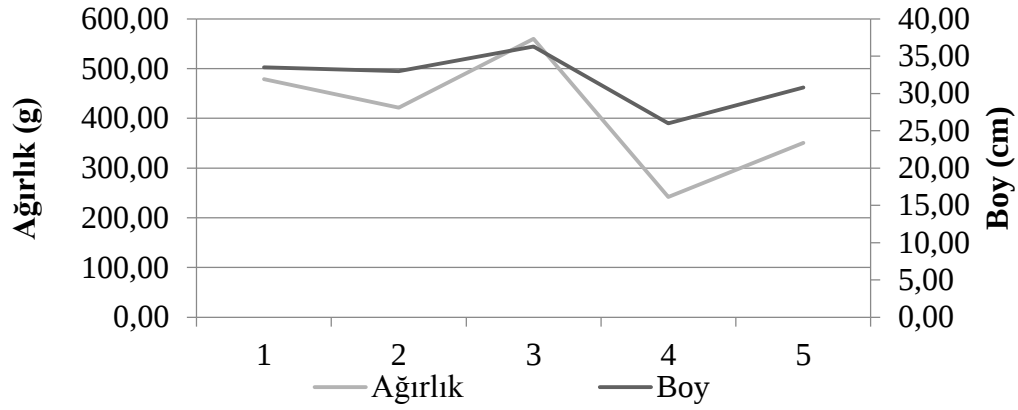
Şekil 4.6. Mogan Gölü’nde Nitrit-Nitrat ilişkisi

4.2. Balıklar

Bu araştırmada Mogan Gölü’nden avlanan balıklardan *Cyprinus carpio* (n=5), *Carassius carassius* (n=6), *Tinca tinca* (n=5) ve *Esox lucius* (n=12), bireylerinin yaş, boy (total boy), ağırlık ve gonad ağırlıkları saptanmış ve her türün boy ve ağırlık ilişkisi grafiklerde gösterilmiştir. Vücut ağırlıkları ile gonad ağırlıklarının karşılaştırılması da grafikler halinde belirtilmiştir.

4.2.1. *Cyprinus carpio*

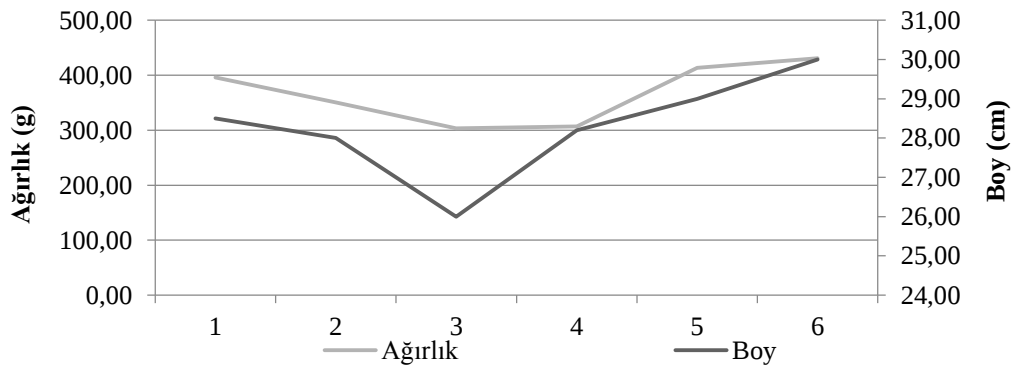
C. carpio bireylerinin III-IV yaşları arasında olduğu, dişi+erkek bireylerin ortalama boy değeri 32,31 cm (26-36,30 cm), ortalama ağırlık değeri ise 410,40 g (241,73-559,80 g) bulunmuştur. Dişi+erkek boy ve ağırlık değerlerinin karşılaştırması Şekil 4.7’de verilmiştir. Avlanan bazı *C.carpio* bireylerinde gonad gelişimi olmadığı için cinsiyet tayini yapılamamıştır. Diğer bireylerde de gelişmiş gonadlar görülmemiştir. Bu sebeple gonad ile vücut ağırlığı karşılaştırması yapılamamıştır. Gonad ağırlığı ortalaması 1,48 g (0,16-2,50 g) bulunmuştur.



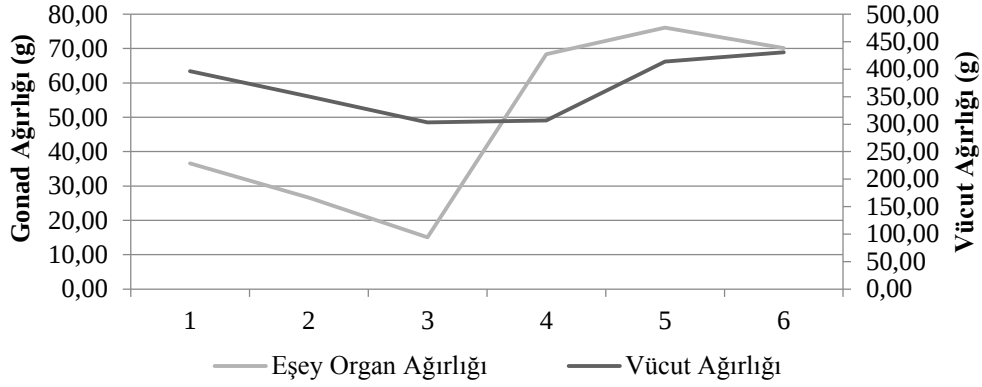
Şekil 4.7. *C. carpio* boy-ağırlık karşılaştırması

4.2.2. *Carassius carassius*

Avlanan *C. carassius* bireylerinin tamamının dişi olduğu belirlenmiştir. Yaş dağılımının II-III olduğu saptanmıştır. Ortalama boy değeri 28,28 cm (26-30 cm), ortalama ağırlık ise 366,94 g (303,45-430,92 g) bulunmuştur. Boy ve ağırlık değerleri karşılaştırması Şekil 4.8’de verilmiştir. Gonad ağırlıkları ortalaması 48,81 g (15,09- 76,09 g) tespit edilmiş olup gonad ağırlığı ile vücut ağırlığı karşılaştırması Şekil 4.9’da görülmektedir.



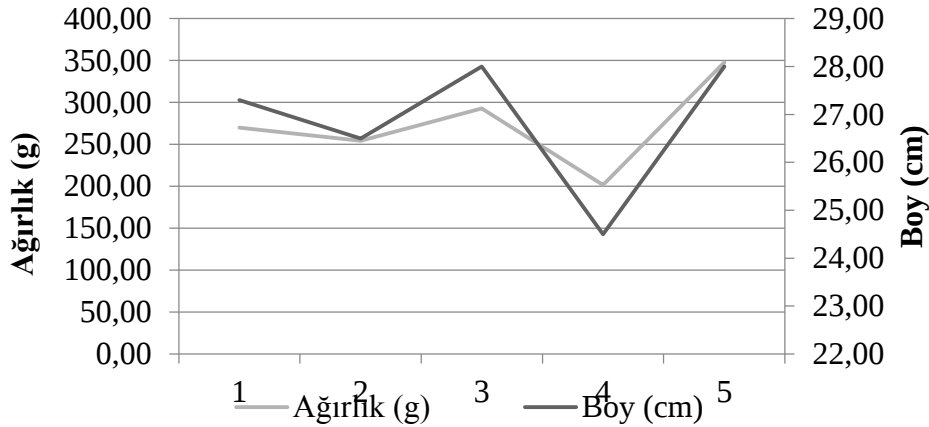
Şekil 4.8. *C. carassius* boy-ağırlık karşılaştırması



Şekil 4.9. *C. carassius* vücut-gonad ağırlığı karşılaştırması

4.2.3. *Tinca tinca*

T. tinca'da yaş dağılımı III-IV olarak belirlenmiştir. Ortalama boy 26,86 cm (24,50-28 cm) bulunmuştur. Ağırlık ortalaması 273,30 g (201,75-347,71 g) olarak belirlenmiştir. Boy ve ağırlık değerleri karşılaştırması Şekil 4.10'da verilmiştir. Bazı bireylerde gonadlardan cinsiyet tespiti yapılamamıştır. Bu nedenle gonad ile vücut ağırlığı karşılaştırması yapılamamıştır. Gonad ağırlığı ortalaması 2,94 g (2,26-3,80 g) belirlenmiştir.

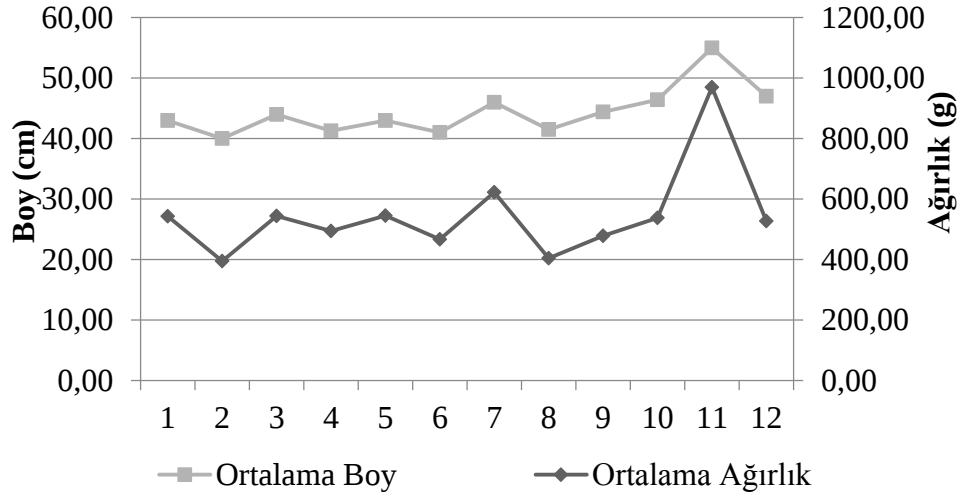


Şekil 4.10. *T. tinca* örneklerine ait boy-ağırlık ilişkisi

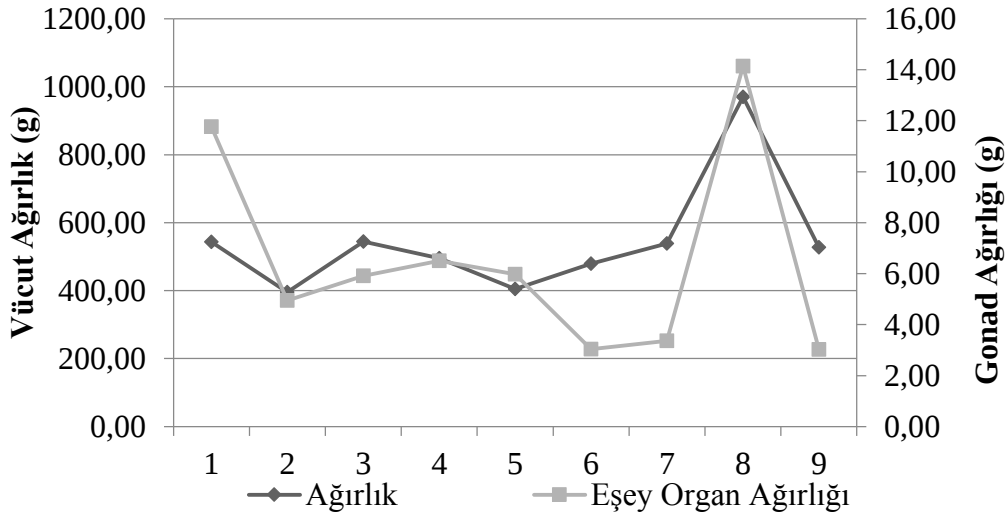
4.2.4. *Esox lucius*

E. lucius bireylerinin IV-VI yaşları arasında olduğu saptanmıştır. Erkek bireylerin ortalama boy değeri 44,73 cm (37-52 cm), ortalama ağırlık değeri ise 544,14 g (395,36-970 g) bulunmuştur. Dişi bireylerin IV yaşında olduğu, boy ortalamalarının 43,33 cm (41-46 cm), ağırlık ortalamasının ise 544,99g (467,01-622,83 g) olduğu belirlenmiştir. Populasyon

geneli boy ve ağırlık değerlerinin karşılaştırması Şekil 4.11’de verilmiştir. Dişi+erkek bireylerde gonad ağırlığı ortalaması 11,45 g (3,04-53,06 g) olarak saptanmış olup vücut ağırlığı ile karşılaştırılması Şekil 4.12’de görülmektedir.



Şekil 4.11. *E. lucius* boy-ağırlık karşılaştırması



Şekil 4.12. *E. lucius* vücut-gonad ağırlığı karşılaştırması

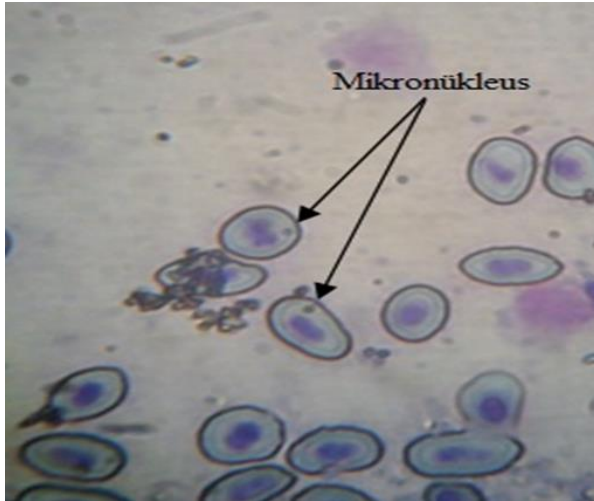
4.3. Hematokrit Ölçümleri

Yapılan hematokrit ölçümü sonucunda *E. lucius* için ortalama değer %32,98 tespit edilmiştir. En yüksek hematokrit değeri %50,45 en düşük hematokrit değeri ise %19,78 bulunmuştur. *C. carpio* için ortalama hematokrit değeri %29,94 olup, en yüksek

hematokrit değeri %32,31 en düşük %27,35 hesaplanmıştır. *C. carassius*'da ortalama hematokrit değeri %23,67 hesaplanmış olup, maksimum %39,74, minimum değer ise %15,71 olarak tespit edilmiştir. *T. tinca* için ortalama hematokrit değeri %26,56 olup, en yüksek değer %35,30, en düşük değer ise %17,58 olarak hesaplanmıştır. Araştırma kapsamındaki türlerde hematokrit değerinin en yüksek *E. lucius*'da olduğu anlaşılmıştır.

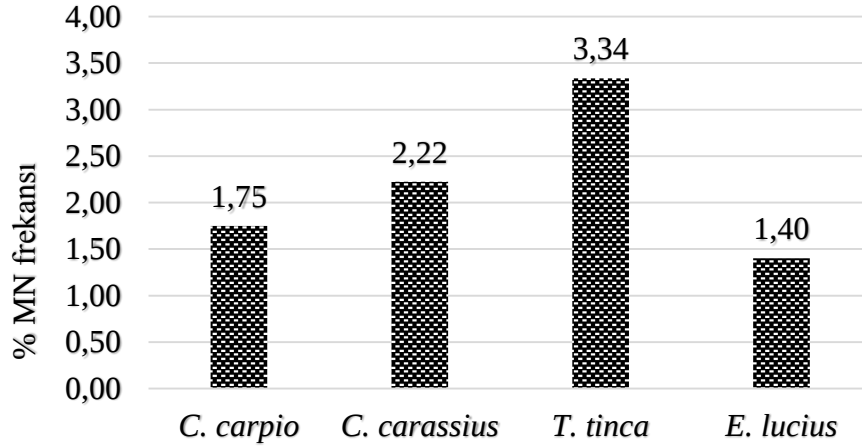
4.4. Eritrosit Mikronükleus Testi

Periferal kan yayma ile hazırlanan preparatlarda normal ve mikronükleuslu çekirdek yapısına sahip eritrositlere rastlanmıştır (Resim 4.1). Bunun yanında kendiliğinden bulunabilen ve genotoksik etki sonucunda frekanslarının arttığı bilinen bazı nükleus anomalilerine rastlanmamıştır. Gruplar çentikli, loblu, tomurcuklu nükleus ve binükleus açısından değerlendirildiğinde bu tip yapılara rastlanmamıştır. Nükleus anomalilerine dair ulaşılan bulgular değerler itibari ile kirliliğe maruz kalınmasına ilişkin olarak bu anomalilerin frekansının artması şeklinde yorumlanabilir (Çavaş ve Ergene-Gözükara, 2003).



Resim 4.1. Mikronükleus görünümü

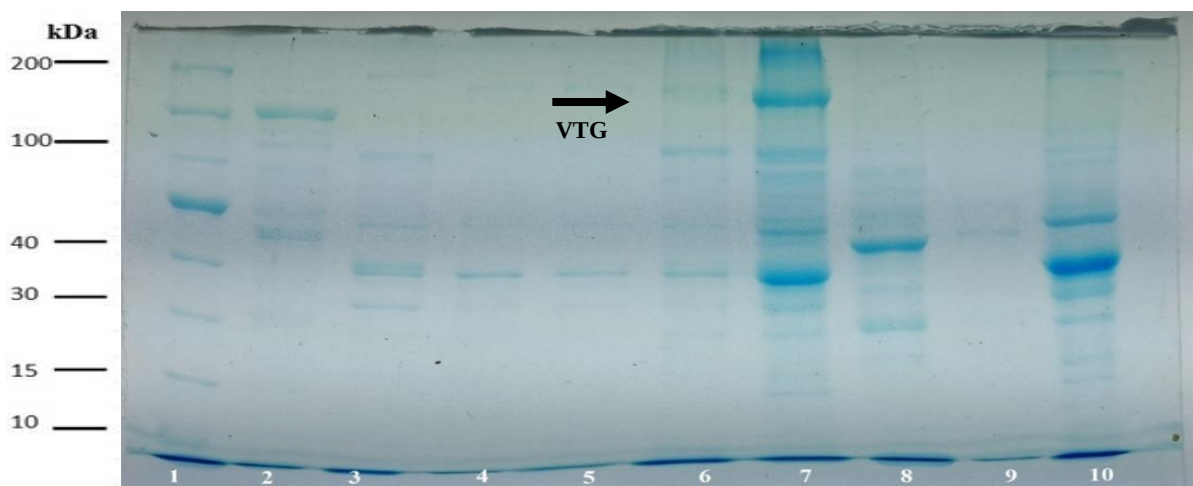
İncelenen bireyler de genotoksik etkiler eritrosit mikronükleus testi ile belirlenmiştir. MN değerleri en yüksek *T. tinca*'da $3,335 \pm 0,1934$ olarak bulunmuştur. *C. carassius* $2,223 \pm 0,1857$, *C. carpio* $1,7475 \pm 0,3813$ bulunurken en düşük değer *E. lucius*'da $1,402 \pm 0,1094$ olarak saptanmıştır (Şekil 4.13).



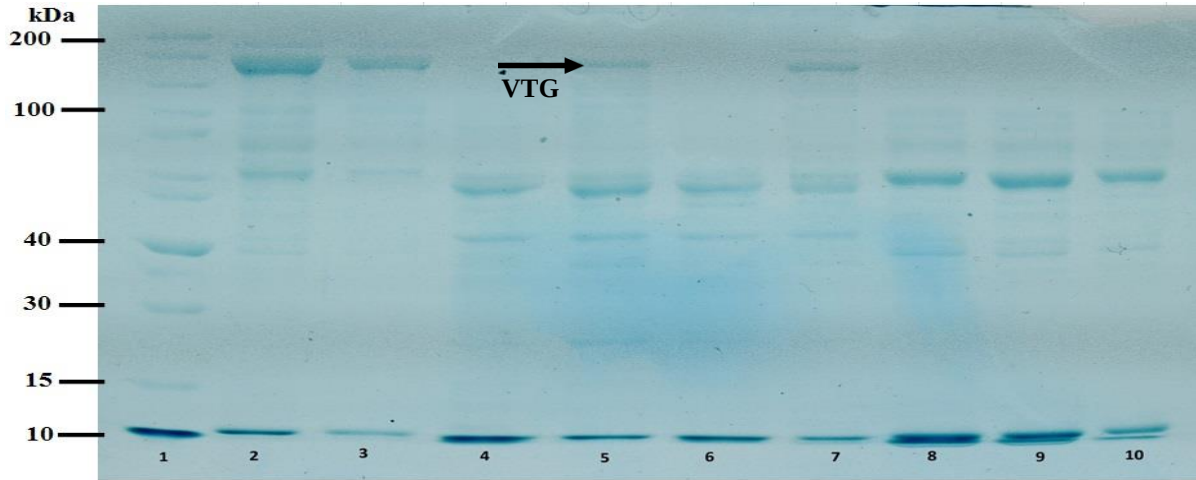
Şekil 4.13. MN frekans grafiği

4.5. Elektroforez Sonuçları

Deney sonucunda jeller incelenmiş ve daha önce VTG'si indüklenmiş örnekler ile karşılaştırılmıştır (Resim 4.2, Resim 4.3). Resimlerde de görülebileceği gibi Mogan Gölü'nde yaşayan ve bu çalışma kapsamında araştırılan ekonomik öneme sahip balık türlerinden *E. lucius*, *C. carpio* ve *T. tinca* bireylerinin vitellogeninlerinin yalnız dişilerde değil erkeklerde de görüldüğü tespit edilmiştir. Bu durumun da Mogan Gölü'nde yaşayan balıkların endokrin sistemini etkileyen antropojenik kirlilik kaynaklarına yani EDC aktiviteli bileşiklere maruz kaldığını düşündürmektedir.



Resim 4.2. VTG tespiti yapılan jel görüntüsü-1: 1. Marker 2. Dişi *C. carpio* (25µg/l östradiol-beta'ya maruz bırakılmış juvenil sazan plazması) 3. Dişi *E. lucius* 4. Erkek *E. lucius* 5. Dişi *E. lucius* 6. Dişi *C. carpio* 7. Erkek *C. carpio* 8. Dişi *T. tinca* 9. Dişi *T. tinca* 10. Dişi *C. carassius*



Resim 4.3. VTG tespiti yapılan jel görüntüsü-2: 1. Marker; 2. Dişi *C. carpio* (25µg/l östradiol-beta)'ya maruz bırakılmış juvenil sazan plazması 3. Erkek *E. lucius* 4. Dişi *T. tinca* 5. Dişi *T. Tinca* 6. Erkek *E. lucius* 7. Erkek *T. tinca* 8. Erkek *C. carpio* 9. Dişi *C. carpio* 10. Dişi *C. carassius*

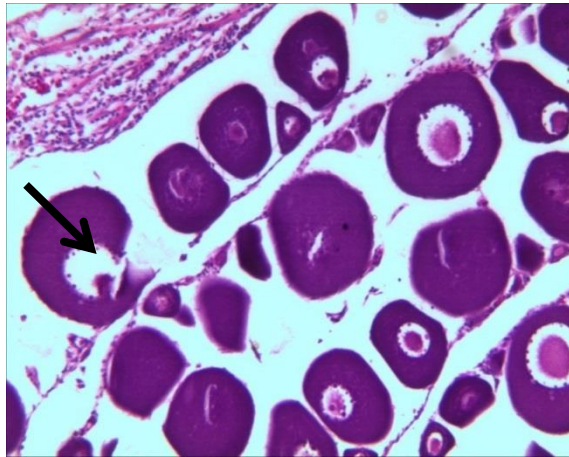
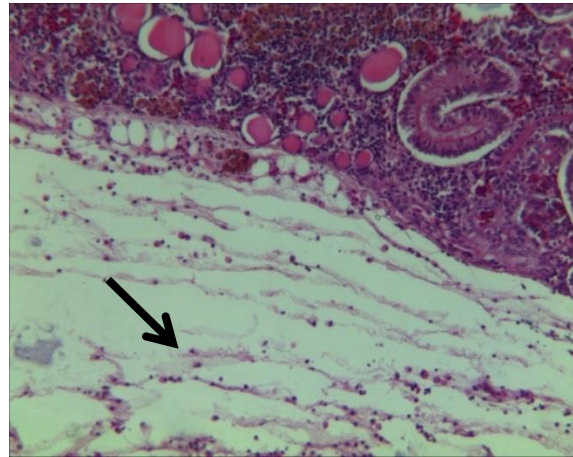
4.6. Histolojik Bulgular

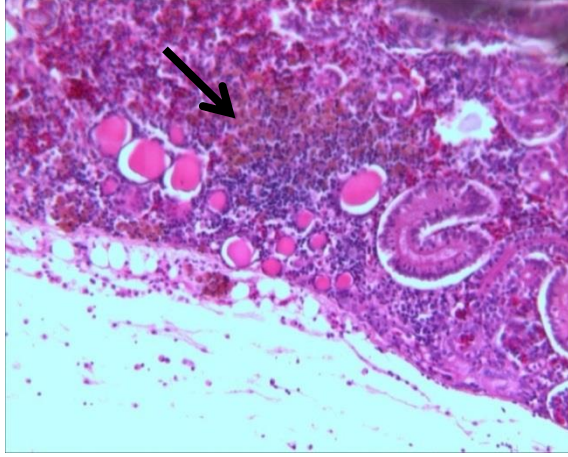
Mogan gölünde Ocak-Mayıs ayları arasında avlanan *C. carpio*, *C. carassius*, *T. tinca* ve *E. lucius*, bireylerinin solungaç, kas, deri, karaciğer, böbrek, periton, sindirim sistemi, gonadlarından histolojik muayene için örnekleme yapılmıştır. İncelenen doku örneklerinde saptanan histopatolojik bulgular Çizelge 4.2.'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.2'de görüldüğü üzere *C. carpio* bireylerinin ovaryumlarında ooforitis (yumurtalık yangısı), böbreklerinde hemoraji (kanama), periton dokularında peritonitis (periton doku yangısı), solungaçlarında branşitis (solungaç yangısı) ve epitel hücrelerde ayrılma, karaciğerde hidropik dejenerasyon (akut hücre şişliği) görülmüştür (Resim 4.4-4.8). *C. carassius*'da ovaryumlarda bazal membranda ayrılma, testislerde spermatozoalarda boşalma, solungaçlarda hiperemi (kanama) ve epitel ayrılması, karaciğerde pasif hiperemi tespit edilmiştir (Resim 4.9-4.12). *T. tinca* ovaryumlarında bazal membran ayrılması ve ooforitis, solungaç dokularında epitel hücrelerde ayrılma ve hiperemi saptanmıştır (Resim 4.13-4.16). *E. lucius* bireylerinin testislerinde siyanotik atrofitis (siyanoza bağlı işlev kaybı), dejenerasyon ve spermatozoalarda boşalma, epitel dokuda hidropik dejenerasyon ve solungaç dokusunda hiperemi ve füzyon (kaynaşma) tespit edilmiştir (Resim 4.17-4.21).

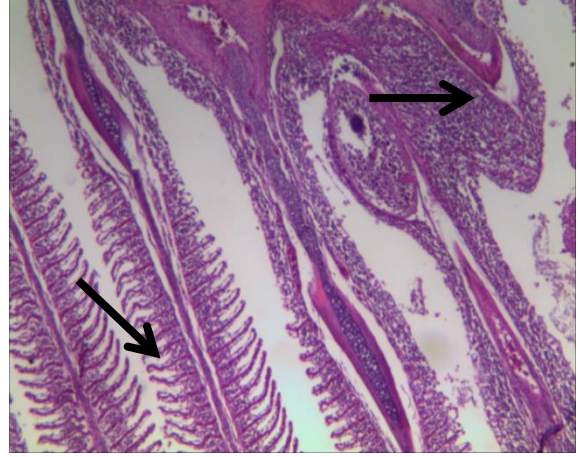
Çizelge 4.2. Balık dokularında tespit edilen anomaliler

Balık	Doku	Saptanan Anomaliler	Seviyesi
<i>C. carpio</i>	Ovaryum	Ooforitis	++
	Böbrek	Hemoraji	++
	Solungaç	Branşitis, Sekonder lamellada epitel ayrılması	++ ++
	Periton	Peritonitis	++
	Karaciğer	Hidropik Dejenerasyon	++
<i>C. carassius</i>	Ovaryum	Bazal membran ayrılması	++
	Testis	Spermatozoalarda boşalma	++
	Karaciğer	Pasif hiperemi	++
	Solungaç	Sekonder lamellada hiperemi Epitelial ayrılma	++ ++
<i>T. tinca</i>	Ovaryum	Ooforitis	++
		Bazal Membran Ayrılması	++
	Solungaç	Sekonder lamellada hiperemi	++
		Epitelial ayrılma	++
<i>E. lucius</i>	Testis	Spermatozoalarda boşalma	++
		Dejenerasyon	++
		Siyanotik atrofisis	++
	Karaciğer	Hidropik Dejenerasyon	++
	Solungaç	Hiperemi	++
		Füzyon	++

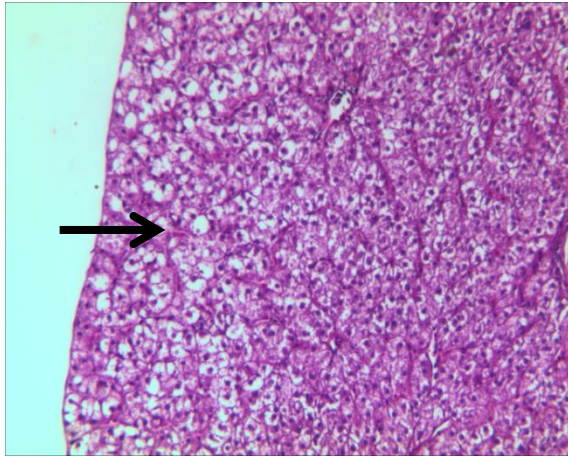
Resim 4.4. *C. carpio* ovaryumda ooforitis (x40; H&E)Resim 4.5. *C. carpio* peritonda peritonitis (x100; H&E)



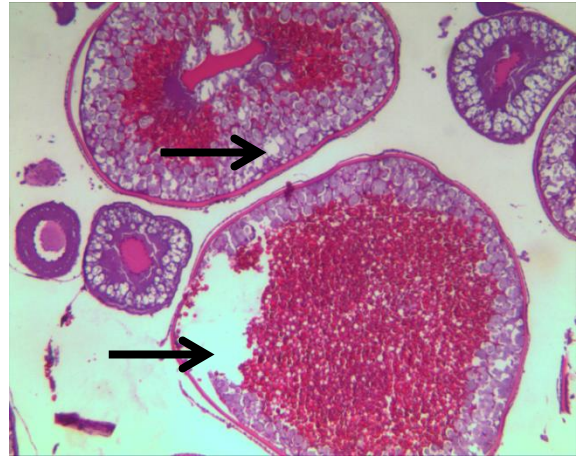
Resim 4.6. *C. carpio* böbrekte hemoraji (x100;H&E)



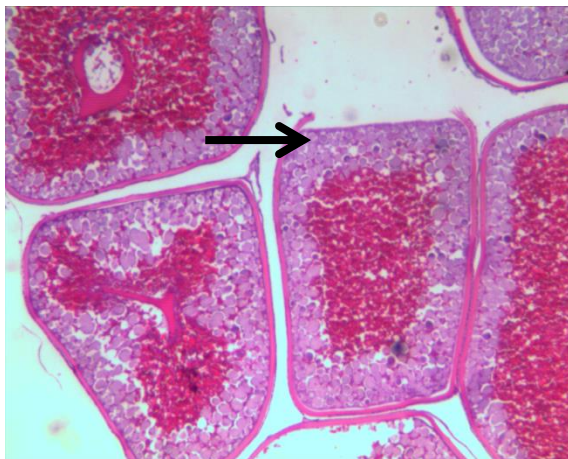
Resim: 4.7. *C. carpio* solungaç branşitis ve sekonder lamellada epitel ayrılması (x40; H&E)



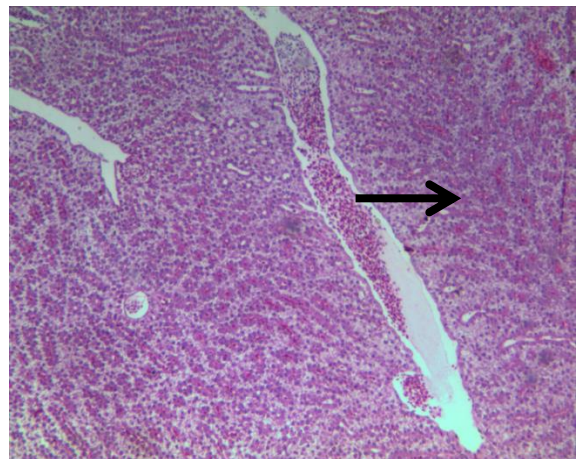
Resim 4.8. *C. carpio* karaciğerde hidropik dejenerasyon (x100; H&E)



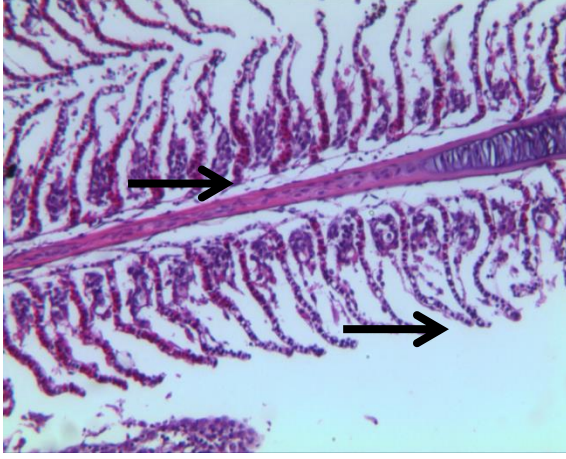
Resim 4.9. *C. carassius* testislerde boşalma (x40; H&E)



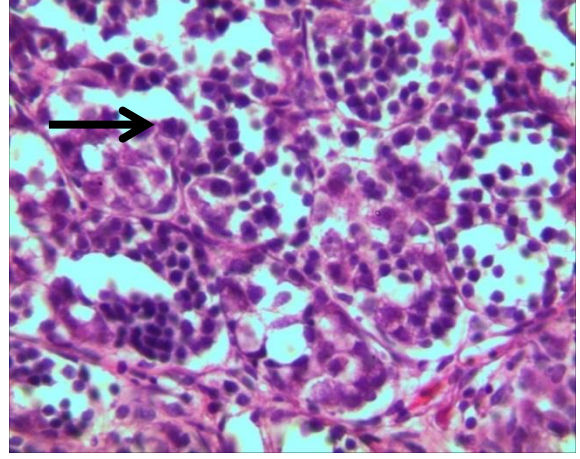
Resim 4.10. *C. carassius* ovaryumun bazal membrandan ayrılması (x40; H&E)



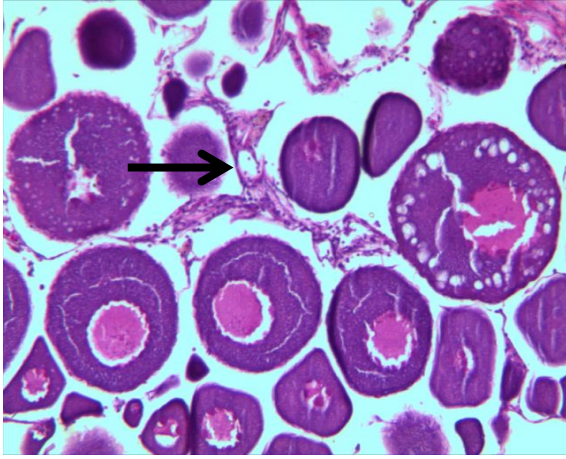
Resim 4.11. *C. carassius* karaciğerde pasif hiperemi (x40; H&E)



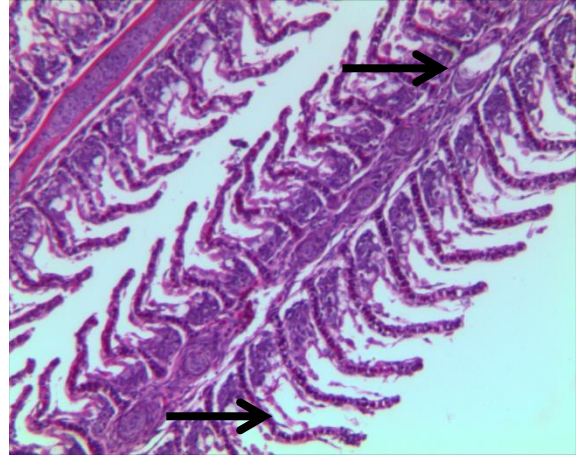
Resim 4.12. *C. carassius* solungaç sekonder lamellada hiperemi ve epitel ayrılma (x100; H&E)



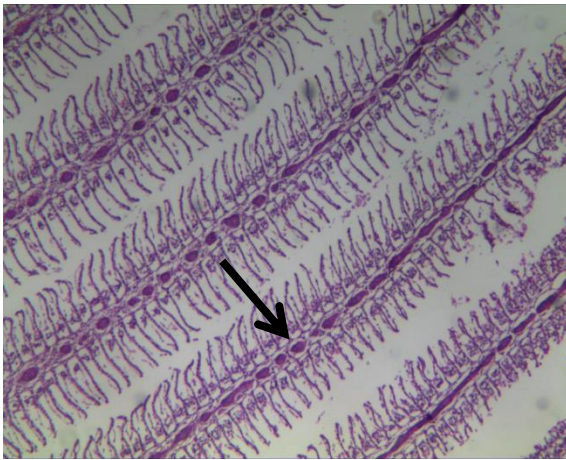
Resim 4.13. *T. tinca* ovaryumda bazal membran ayrılması (x40; H&E)



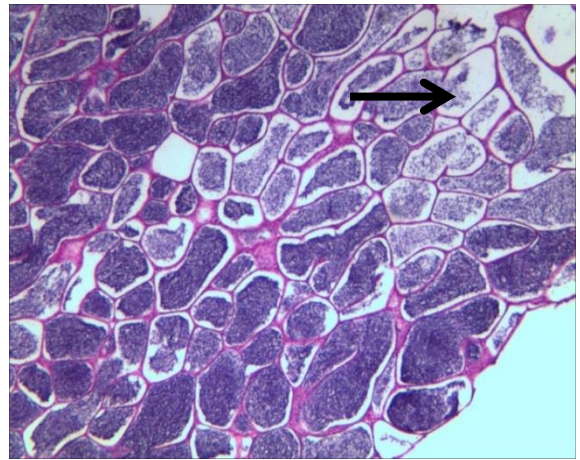
Resim 4.14. *T. tinca* ovaryumda ooforitis (x40; H&E)



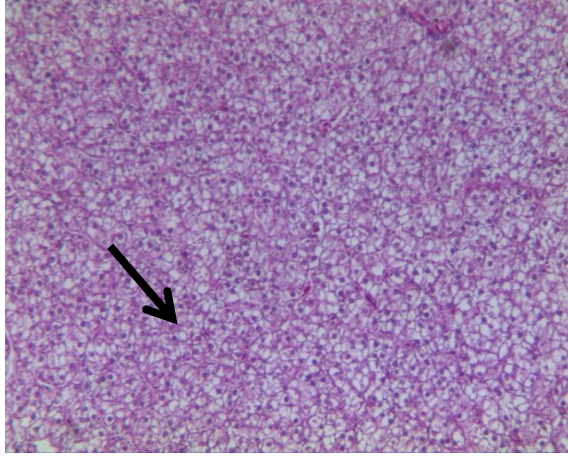
Resim 4.15. *T. tinca* solungaçta sekonder lamellada epitel ayrılması ve hiperplazi (x100; H&E)



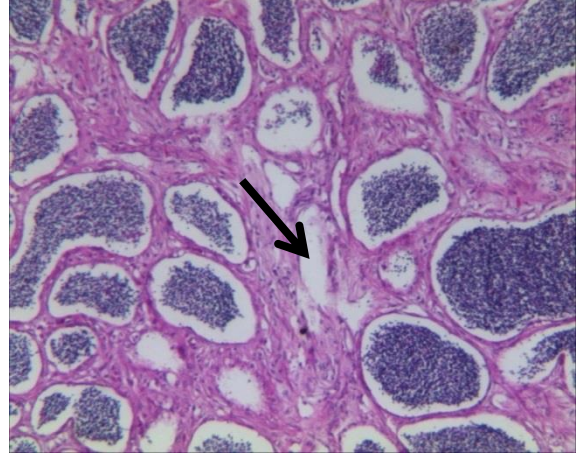
Resim 4.16. *T. tinca* solungaç sekonder lamellada epitel ayrılması (x40; H&E)



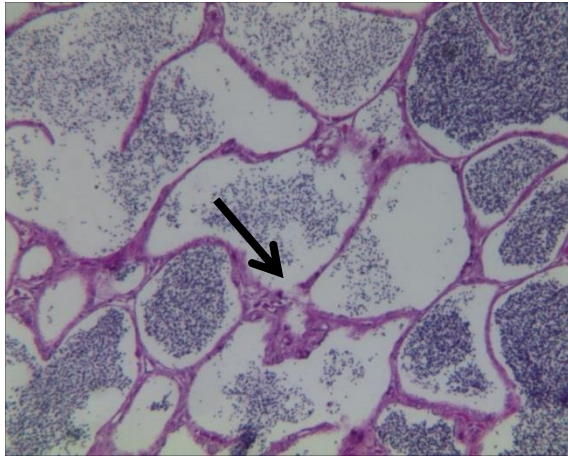
Resim 4.17. *E. lucius* testislerde boşalma (x100; H&E)



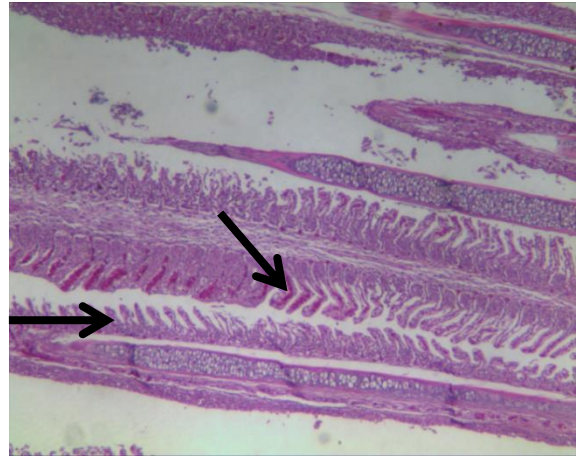
Resim 4.18. *E. lucius* karaciğerde hidropik dejenerasyon (x100; H&E)



Resim 4.19. *E. lucius* testis siyanotik atrofitis (x100; H&E)



Resim 4.20. *E. lucius* testiste dejenerasyon (x100; H&E)



Resim 4.21. *E. lucius* solungaç doku hiperemi, füzyon (x40; H&E)

5. TARTIŞMA

Mogan Gölü su analiz sonuçlarına göre su kalite parametrelerinden Nikel ulusal (TSE 266, 2005; YSKYY, 2012) ve uluslararası (WHO, 1996; US EPA, 2002) referans değerlerine göre yüksek bulunmuştur. Krom ulusal referans değerlerine göre (YSKYY, 2012) yüksek olup, uluslararası değerlere göre de sınır düzeyinde bulunmuştur. Diğer su kalite parametreleri açısından Mogan Gölü'nde önemli bir tehdit olmadığı, ancak bazı parametrelerin sınır değerlere yakın oluşu göldeki flora ve fauna elemanları için tehlide yakın durumların olduğunu düşündürmektedir. Özellikle balıkların su kalite parametrelerindeki olumsuz gelişmelerinden yakın düzeyde etkileneceğine işaret etmektedir.

Bu çalışmada Mogan gölünde yaşayan *C. carpio*, *C. carassius*, *T. tinca* ve *E. lucius* balıklarının üreme dönemlerine rastlayan 5 aylık periyotta, göldeki kirliliğin yarattığı etkilerin incelenmesi amacıyla dişi ve erkek bireylerden kan ve doku örnekleri alınmıştır. Kan örneklerinde hematokrit, periferik eritrositlerde mikronükleus testi ve kan plazmasında SDS-Page metodu ile elektroforetik vitellogenin analizi yapılmıştır.

Mogan Gölü'ndeki *C. carpio*, *C. carassius*, *T. tinca* ve *E. lucius*'da kan örneklerinde hematokrit seviyeleri belirlenmiştir. Hematokrit seviyesi üzerinde balıkların türleri ile boy, ağırlık, eşey ve mevsimsel faktörlerdeki değişimin etkili olduğu bildirilmektedir (Garcia, Echevarria, Martinez, ve Zamora, 1992). Bu çalışmada ortalama hematokrit değerleri; *C. carpio* %29,94, *C. carassius* %23,67 ve *T. tinca* %26,56, *E. lucius*'da %32,98 bulunmuştur. En yüksek hematokrit değeri %50,45 ile *E. lucius*'da bulunmuştur.

Kandemir ve diğerleri, (2010) Sultansuyu'nda *Cyprinus carpio*'da %30,5±2,2; Haşiloğlu ve Atamanalp (2002) Demirdöven Baraj Gölü'nde *Leuciscus cephalus*'da %37±5,4; Atamanalp ve diğerleri (2002) Tuzla Çayı'nda *Capoeta capoeta capoeta*'da %46,22±4,55; Başusta ve Şen (2004) Keban Baraj Gölü'nde *Leuciscus cephalus*'da %28,9±1,8, *Capoeta trutta*'da %27,6±1,4 ve *Capoeta capoeta umbla*'da %31,4±1; olarak saptamışlardır. Literatürdeki bu bilgilerde hematokrit değerlerinde türler ve su sistemleri arasında önemli farklılıklar olduğu görülmektedir. Kirlilik parametrelerinin sucül ortamda balıkların hematokrit değerlerinde önemli düzeyde düşüşe sebebiyet verdiği belirtilmektedir

(Atamanalp ve diğerkleri, 2002). Atıkların kirlettiğı su siteminde *Cyprinus carpio*'da hematokrit değerkinin %27,4'den 24,9'a gerilediğı belirtilmektedir (Kakuta, Ishii, ve Murachi, 1994). Kentsel atıklar ile sucul ortama karışan kimyasalların çeşitli balık türlerinin hematokrit değerkini önemli seviyede düşürdüğü bildirilmektedir (Malla Reddy ve Bashamohideen, 1989; Shakoori, Mughal, ve Iqbal, 1996; Atamanalp, 2000). Farklı su sistemlerindeki araştırma sonuçları ile bu araştırmadaki bulgular arasında benzerlikler olduğu anlaşılmaktadır.

Araştırmada periferal eritrosit anomalilerinin tespiti amacı ile mikronükleus testi uygulanmıştır. Mogan Gölü'nde yaşayan ve bölge halkı açısından ekonomik değeri bulunan balık türlerinde genotoksik hasarın göstergesi olan mikronükleuslara rastlanmıştır. Benzer şekilde Çavaş ve Ergene-Gözükara, (2003), balıklar üzerinde bir tekstil fabrikası atık sularının genotoksik etkilerini incelemek amacı ile *Oreochromis niloticus*'un solungaç ve eritrosit hücreleri üzerinde mikronükleus testi yapmışlar ve maruziyet sonucu mikronükleus sayısında artış olduğunu bildirmişlerdir. Yine Çavaş ve Könen (2014), yaygın olarak kullanılan ve glifosat izopropilamin tuzunu ihtiva eden bir herbisitinin genotoksik etkilerini tespit etmek amacıyla yaptıkları çalışmada *Carassius auratus* üzerinde mikronükleus testini yapmışlardır. Deney sonucunda kullanılan herbisitinin genotoksik hasar verici olduğunu ve mikronükleus sayısında belirgin bir artış olduğunu saptamışlardır. Çavaş, Garanko ve Arkhipchuk (2005), ağır metallerin genotoksik etkilerini belirlemek için *Cyprinus carpio*, *Carassius gibelio*, *Corydoras paleatus* türlerinde yaptıkları çalışma sonucunda dokuların ağır metallere karşı duyarlılık gösterdiğini belirtmektedirler. Ağır metal maruziyeti sonucunda mikronükleus sayılarında önemli artışlar saptanmış ve ağır metallerin genotoksik etkileri olduğunu bildirmişlerdir.

Su kirliliğine sebep olan maddeler sucul organizmalarda mutajenik ve genotoksik etkiye sahip olmaktadır. Bu durum sitogenetik ve sitotoksikite çalışmalarının önemini arttırmaktadır.

Bu çalışmadaki tespitler ile farklı araştırmacıların sonuçları arasında benzerlik olduğu anlaşılmıştır. Balıkların eritrositlerindeki mikronükleus frekansının artışı ile su sistemindeki kirlilik unsurlarının ilişkili olduğu anlaşılmaktadır. Elde edilen bulgulara göre genotoksik etkilerin türler arası farklılıklar gösterdiği ve tatlı su sistemlerinde

genotoksik etkinin incelenmesinde eritrosit mikronükleus (MN) testinin güvenle kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Mogan Gölü'nde yaşayan *C. carpio*, *C. carassius*, *T. tinca* ve *E. lucius* bireylerinin kan plazmalarında elektroforetik vitellogenin analizi yapılmıştır. Deneyin hassasiyeti ve güvenilebilirliği VTG'ye karşı üretilmiş antikoron özelliklerine bağımlı olduğundan, plazmada elektroforetik yöntemle VTG varlığının gösterilmesi ekotoksikolojik yönden tercih edilmektedir (Tyler and Sumpter, 1990; Asturiano ve diğerleri, 2005). Ayrıca tüm türlerde doku örnekleri de histolojik olarak incelenmiştir.

SDS-Page metodu ile elektroforetik vitellogenin analizinde cinsi olgunluğa erişmemiş ve üreme periyodu dışında kalan balıklarda plazmada vitellogenin proteinine rastlanmamıştır. Araştırmada *C. carpio*, *C. carassius*, *T. tinca* ve *E. lucius* balıklarının tüm ergin dişi bireylerinde VTG saptanmıştır. İncelen türlerden *C. carassius* dışındaki diğer türlerin en az bir erkek bireyinde VTG proteini görülmüştür.

Bu araştırmadaki bulgulara benzer olarak Tyler ve diğerleri, (1996) muhtelif Cyprinidae familyasından *Leuciscus leuciscus*, *Tinca tinca*'ların VTG'lerinin RIA testinde çapraz reaksiyon verdiğini bildirmiştir. Cyprinidae dışındaki diğer 8 familyada ise vitellojenik balıklardan alınan plazmada radyoimmün (RIA) testinde çok düşük oranda çapraz reaksiyon rapor edilmiştir. Sonuç olarak Cyprinidae familyasından olmayan balıkların VTG'sinin, Cyprinidae'lerin VTG'sinden immünolojik olarak önemli derecede farklı olduğunu tespit etmişlerdir. Dişi balıkların plazma VTG düzeyleri üreme döngüsü boyunca ölçülmüş ve vitellojenik ovaryum gelişiminin zirve yaptığı dönemde en yüksek bulunduğunu belirtmişlerdir. Meucci ve Arukwe (2005) Atlantik salmonlarında (*Salmo salar*) ergin olmayan (olgunlaşmamış, immatür, juvenil) bireylerde su kirleticisi bisfenol A'ya maruz kalmadaki VTG ve zona radiata proteinlerini elektroforez ve ELİZA ile araştırmışlar ve non-invaziv bir ekotoksikolojik biomarkır olarak geliştirilebileceğini belirtmişlerdir.

Maltais ve Roy (2007, 2009) Kanada'dan *Moxostoma hubbsi* ve *Moxostoma macrolepidotum* türlerinin mukus ve plazma vitellogeninlerini araştırdıkları çalışmalarında; östradiol ile indüklenen juvenil bireylerde hem plazma hem de mukusta vitellogenin tespit etmişlerdir. Çalışmalarında elektroforez, ELİZA yöntemiyle 150 kDa

molekül ağırlığında bir büyük ve 120 kDa'da da küçük bir bant bulmuşlardır. Böylece yüzey mukusunun non-invaziv bir vitellogenin örneği olarak geliştirilebileceğini öne sürmüşlerdir. Ayrıca türün üreme biyolojisinin araştırılmasında da kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Brion ve diğerleri (2000) *Oncorhynchus mykiss*, *Gobio gobio* ve *Leuciscus cephalus*; Asturiano ve diğerleri (2005) *Liza aurata*; Hennies, Wiesmann, Allner ve Sauerwein (2003) *Cyprinus carpio* ve *Perca fluviatilis*; Roubal, Lomax, Willis ve Johnson (1997) *Pleuronectes vetulus*; Ndiaye ve diğerleri (2006) *Oreochromis niloticus*; Allner ve diğerleri, (1999) *Leuciscus idus* ve *Danio rerio* (östrojen indüksiyonundan sonra); Nagler, Ruby, Idler ve So (1987) *Salmo gairdneri* (östrojen indüksiyonundan sonra); Yamaguchi (2009) *Oryzias latipes*; Yamanaka ve diğerleri (1998) *Fundulus heteroclitus* türlerinde VTG izole edilen ve elektroforez ile incelenen araştırmalar yapmışlardır. Bu çalışmalarındaki sonuçlar ile Mogan Gölü balıklarındaki VTG tespitleri arasında benzerlikler olduğu anlaşılmıştır.

Mogan Gölü ekonomik balıklarından *C. carpio*, *C. carassius*, *T. tinca* ve *E. lucius*'un solungaç, kas, deri, karaciğer, böbrek, periton, sindirim sistemi ve gonadlarından alınan dokularında yapılan histolojik incelemelerde örneklerin bir kısmında çeşitli anomaliler tespit edilmiştir. Solungaçlarda bronşitis, hiperemi, epitelial ayrılması, füzyon, karaciğerde hidropik dejenerasyon, pasif hiperemi; böbreklerde hemoraji, ovaryumlarda ooforitis, bazal membran ayrılması; testislerde spermatozoalarda boşalma, dejenerasyon; peritonda peritonitis; sindirim sisteminde enteritis belirlenmiştir.

Dostbil ve Benli (2010) Mogan Gölü'nde yaşayan *C. carpio*'nun solungaç ve karaciğer dokularında yaptıkları histolojik incelemede; solungaçlarda hiperemi, sekonder lamellalarda hiperplazi saptamışlardır. Barlas (1999) Yukarı Sakarya havzasında yaşayan *C. carpio* solungaçlarında hiperplazi, muköz hücrelerinin hipersekresyonu ve primer lamellanın ayrışması, karaciğer dokusunda hipertrofi, konjesyon ile özellikle lobüllerin perifer bölgelerinde mononükleer hücre infiltrasyonu, böbrek dokusunda tübül, epitel hücrelerinde hipertrofi, nükleer piknoz ve absorbsiyon yüzeyinin tahrip olması durumlarını saptamıştır.

Koponen ve diğerleri (2001) Poliklorlu bifenil ile kirlenmiş gölde yaşayan *Abramis brama* ile *Aspius aspius* böbreklerinde renal kapsülde anormal hücresel değişiklikler, glomerular kapillerde dilatasyon, mezangial ödem, bowman kapsülünde adezyon ve doluluğa

rastlanmıştır. Aynı çalışmada karaciğer, solungaç, gonad, dalak ve bağırsakta hücresel değişikliklere de rastlanmıştır. Mohamed (2009) Mısır'da Qarun gölünde 2008 yılı yaz ve kış mevsimlerinde *Tilapia zillii* ve *Solea vulgaris* ile yaptıkları doku çalışmasında hepatositlerde vakuoler dejenerasyon, kan sinüzoidlerinde dilatasyon ve kongesyon, solungaç filamentlerinde proliferatif, dejeneratif ve nekrotik değişiklikler, renal tübüllerde vakuoler değişiklikler, fokal nekroz, Bowman kapsülünde atrofi saptamıştır.

Mogan Gölü ekonomik balıklarında saptanan histolojik farklılaşmaların literatür bilgileri ile uygunluk gösterdiği, ancak su sistemlerinin biyotik ve abiyotik farklılıkları ile su sistemlerini tehdit eden kirlilik unsurlarının farklı etkiler yaptıkları anlaşılmıştır. Su kalite parametreleri açısından Mogan Gölü'nde önemli risk faktörlerinin henüz oluşmadığı görülmektedir. Fakat bazı su kalite parametrelerinin referans değerler açısından tehdit sınırına yakın düzeyde oluşlarının *C. carpio*, *C. carassius*, *T. tinca* ve *E. lucius* bireylerinin dokularında saptanan histopatolojik anomalilerde etkili olduğu, ayrıca mikronükleus tespiti ile çevresel kirleticilerin su sistemindeki bazı örnekler üzerinde genotoksik hasar meydana getirdiği saptanmıştır. Mogan Gölü'nde yaşayan ve ekonomik öneme sahip *C. carpio*, *C. carassius*, *T. tinca* ve *E. lucius* türlerinin özellikle erkek bireylerinde rastlanan VTG proteini, çevresel kirleticilerin EDC aktiviteli olarak üreme siklusunda andropojenik etki yaparak VTG sentezine sebep olabileceklerini düşündürmektedir. Bu bağlamda gölde yapılmış bu çalışma antropojenik kirletici tehditinde bulunan göller için örnek teşkil edecek ve ileride bu konuda yapılacak çalışmalara ışık tutacaktır. Bu çalışmada kullanılan biyolojik yöntemlerin, ekonomik ve kirlilik tesbiti yönünde iyi biyobelirteçler olarak kullanılabileceği ve elde edilen bulgularında pozitif bir korelasyon gösterdiği de belirlenmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırmada elde edilen bulgular diğer araştırmacıların bulguları ile benzerlikler göstermektedir. Literatür bilgilerinin araştırma sonuçlarımız ile karşılaştırılması sonucu; çevresel kirliliğe neden olan kirleticilerin ekonomik öneme sahip balık türlerinin, özellikle erkek bireylerinde, VTG tespiti ile üreme siklusunda aksamalar ve bozulmalar meydana getirdiği, dokuların histolojik olarak incelenmesi sonucu çeşitli anomaliler meydana geldiği tespit edilmiştir. Hematokrit seviyesindeki bulgular ve eritrosit mikronükleus testi sonuçları da genotoksik ve sitotoksik hasarları destekler nitelikte sonuçlar vermiştir. Tüm sonuçlar diğer araştırmacıların sonuçları birlikte değerlendirildiğinde Mogan Gölü ile ilgili olarak aşağıdaki önerilerde bulunulmuştur.

1. Su sistemlerinde sadece su kalite parametreleri üzerinden kirlilik ve etkilerinin belirlenmesi beklenen sonuçların alınmasında yeterli veriler olmayacaktır. Bu nedenle sucul ekosistem bileşenlerinin önemli grubunu oluşturan ve besin kaynağı konumunda önem taşıyan balıklardaki hematolojik, histolojik ve genotoksik araştırmaların periyodik olarak yapılması gerekmektedir.
2. Mogan Gölü çevresel etkileşim sürecinde bazı su kalite parametreleri açısından riskli bir alana sahiptir. Yıllık su kalite parametrelerin takibi ve referans değerlerin üzerine çıkabilecek durumda olan fiziksel ve kimyasal özellikler için yaptırım gücü yüksek tedbirler alınıp uygulanmalıdır.
3. Balıkçılık faaliyetleri açısından su sistemlerinin produktiviteleri üzerinde etkili olabilecek besin kaynakları ve ortam canlıları arasındaki ilişkilerde etkilenme durumları ve beklenen tehditler kısa ve uzun vadeli bilimsel takiplerle kontrol altında tutulmalıdır.
4. Balık sağlığı tespitlerinde eritrosit mikronükleus testi ve hematokrit düzeyinin saptanması pratik ve yararlanılabilir uygulamalar olarak kullanılabilir.
5. Akuatik ortamlarda endokrin bozucu etki gösteren kimyasallar belirlenmeli, risk grubunda bulunan su kaynaklarında östrojenik etki mekanizmasına sahip bu kimyasalların bulunma düzeyleri acilen azaltılmalı ve bulaşma kaynaklarının önlenmesi için kalıcı

özmler retilmelidir. Sucul ortamlarda akümülasyon özelliğine sahip EDC aktiviteli kimyasalların kullanımları yasaklanmalıdır.

6. Endokrin bozucu olarak tespit edilen bütün kimyasalların seviyelerinin periyodik olarak takibi amacı ile çalışmalar yapılmalı ve bu yapılacak çalışmaların desteklenmesi sağlanmalıdır.

KAYNAKLAR

- Akbostancı, E., Tunç, G. İ. ve Aşık, S. T. (2004). İmalat sanayi ve kirlilik: bir kirli endüstri sığınağı olarak Türkiye, Ankara: *ERC Working Paper in Economic*.
- Allner, B., Wegener, G., Knacker, T. and Stahlschmidt-Allner, P. (1999). Electrophoretic determination of estrogen-induced protein in fish exposed to synthetic and naturally occurring chemicals. *The Science of the Total Environment*, 233(1-3), 21-31.
- Altun, S. ve Diler, Ö. (1999). *Yersinia ruckeri* ile infekte edilmiş gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) hematolojik incelemeler. *Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 23, 301-309.
- Al-Salhi, R., Abdul-Sada, A., Lange, A., Tyler, C. R. and Hill, E. M. (2012). The xenometabolome and novel contaminant markers in fish exposed to a wastewater treatment works effluent. *Environmental Science & Technology*, 46(16), 9080–9088.
- Amano, H., Fujita, T., Hiramatsu, N., Todo, T. and Hara, A. (2009). Purification and classification of three lipovitellin subtypes in the marbled sole (*Pleuronectes yokohamae*). *Zoological Science*, 26(7), 510–516.
- Andersson, C., Katsiadaki, I., Lundstedt-Enkel, K. and Örberg, J. (2007). Effects of 17 alfa-ethynylestradiol on EROD activity, spiggin and vitellogenin in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Aquatic Toxicology*, 83(1), 33–42.
- Ankley, G. T., Bencic, D. C., Breen, M. S., Collette, T. W., Conolly, R. B., Denslow, N. D., Edwards, S. W., Ekman, D. R., Garcia-Reyero, N., Jensen, K. M., Lazorchak, J. M., Martinović, D., Miller, D. H., Perkins, E. J., Orlando, E. F., Villeneuve, D. L., Wang, R. and Watanabe, K. H. (2009). Endocrine disrupting chemicals in fish: developing exposure indicators and predictive models of effects based on mechanism of action. *Aquatic Toxicology*, 92(3), 168–178.
- Arda, G. (2011). Sariağz (*Argyrosomus regius*) larvalarında gastrointestinal tüpün histolojik gelişimi. *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Yüksek Lisans Tezi)*.
- Arukwe, A. and Røe, K. (2008). Molecular and cellular detection of expression of vitellogenin and zona radiata protein in liver and skin of juvenile salmon (*Salmo salar*) exposed to nonylphenol. *Cell Tissue Research*, 331, 701–712.
- Arslan, P., Dalgıç, M. A., Sarıçakmak, S., Sarıgil, N., Ülker, Ş. ve Memmi, B. K. (2011). Çamaşır suyu ve bulaşık deterjanının lepiştes (*Poecillia reticulata* Peters, 1859) balıkları üzerindeki genotoksik etkilerinin mikronükleus testi kullanılarak araştırılması. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4, 29-37.
- Asturiano, J. F., Romaguera, F., Aragon, P., Atienza, J., Puchades, R. and Maquieira, A. (2005). Sandwich immunoassay for determination of vitellogenin in golden grey mullet (*Liza aurata*) serum as a field exposure biomarker. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 381, 1152–1160.

- Atamanalp, M., Bayır, A., Sirkecioğlu, A. N. ve Cengiz, M. (2003). Bir dezenfektanın (malahit yeşili) subletal dozlarının gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kan parametreleri üzerine etkileri. *Gazi Üniversitesi. Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 23(3), 177-187.
- Atamanalp, M. ve Cengiz, M. (2002). Bir sentetik piretroit insektisit (Cypermethrin)'in subletal dozlarının *Capoeta capoeta capoeta* (Güldenstaedt, 1772)'da hemoglobinin, hematokrit ve sediment seviyeleri üzerine etkilerinin belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 19(1-2), 169-175.
- Atamanalp, M., Kocaman, E. M. ve Canyurt, M. A. (2002). Kentsel atıkların *Capoeta capoeta capoeta* (Güldenstaedt, 1772)'nın hematokrit ve sediment seviyeleri üzerine etkileri. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 19(3-4), 439-445.
- Atamanalp, M. (2000). Bir sentetik piretroit insektisit (cypermethrin) subletal dozlarının gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'na makroskopik, histopatolojik, hematolojik ve biyokimyasal etkileri. Yayımlanmış Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum.
- Ayllon, F. and Garcia-Vazquez, E. (2000). Induction of micronuclei and other nuclear abnormalities in european minnow *Phoxinus phoxinus* and Mollie *poecilia latipinna*: an assessment of the fish micronucleus test. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 467(2), 177–186.
- Başusta, G.A. ve Şen, D. (2004). Keban Baraj Gölü'nde yaşayan *Acanthobrama marmid* Heckel, 1843'de kan parametrelerinin incelenmesi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 28(1), 1-6.
- Bat, L., Erdem, Y., Tırıl, S. U. ve Yardım, Ö. (2008). Balık Sistematığı. 1 Baskı. Ankara: *Nobel Basımevi*.
- Beklioglu, M., Carvalho, L. and Moss, B. (1999). Rapid recovery of a shallow hypertrophic lake following sewage effluent diversion: lack of chemical resilience. *Hydrobiologia*, 412, 5–15.
- Benzer, S. Ş., Gül, A. ve Yılmaz, M. (2008). The feeding biology of *Tinca tinca* L., 1758 living in Hirfanlı Dam Lake. Cumhuriyet Üniversitesi. *Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, 28(1), 40-50.
- Birkhøj, M., Nellemann, C., Jarfelt, K., Jacobsen, H., Andersen, H. R., Dalgaard, M. and Vinggaard, A. M. (2004). The combined antiandrogenic effects of five commonly used pesticides. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 201, 10– 20.
- Bjorkblom, C., Mustamaki, N., Olsson, P., Katsiadaki, I. and Wiklund, T. (2011). Assessment of reproductive biomarkers in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) from sewage effluent recipients. *Environmental Toxicology*, 28, 229–237.
- Blaise, C., Gagné, F., Pellerin, J. and Hansen, P. D. (1999). Determination of vitellogenin-like properties in *Mya arenaria* hemolymph: a potential biomarker for Endocrine Disruption. *Environmental Toxicology*, 14, 455-465.

- Bolognesi, C., Perrone, E., Roggieri, P., Pampanin, D. M. and Sciutto, A. (2006). Assessment of micronuclei induction in peripheral erythrocytes of fish exposed to xenobiotics under controlled conditions. *Aquatic Toxicology*, 78, 93-98.
- Brandt, I., Jonsson, C. J. and Lund, B. O. (1992). Comparative studies on adrenocorticytic DDT-Metabolites. *AMBIO*, 21, 602-605.
- Brion, F., Rogerieux, F., Noury, P., Migeon, B., Flammarion, P., Thybaud, E. and Porcher, J.M. (2000). Two-step purification method of vitellogenin from three teleost fish species: rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), gudgeon (*Gobio gobio*) and chub (*Leuciscus cephalus*). *Journal of Chromatography. B, Biomedical Sciences and Applications*, 737(1-2), 3-12.
- Brown, S. B., Evans, R. E., Vandenbyllardt, L., Finnson, K. W., Palace, V. P., Kane, A. S., Yarechewski, A. Y. and Muir, D., C. G. (2004). Altered thyroid status in lake trout (*Salvelinus namaycush*) exposed to co-planar 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl. *Aquatic Toxicology*, 67(1), 78-85.
- Bugel, S. M., White, L. A. and Cooper, K. R. (2010). Impaired reproductive health of killifish (*Fundulus heteroclitus*) inhabiting Newark Bay, NJ, a chronically contaminated estuary. *Aquatic Toxicology*, 96, 182–193.
- Burnak, S. L. ve Beklioğlu, M. (2000). Macrophyte-dominated clearwater state of Lake Mogan. *Turk Journal of Zoology*, 24, 305-313.
- Chiang, G., McMaster, M. E., Urrutia, R., Saavedra, M. F., Gavilan, J. F., Tucça, F., Barra, R. and Munkittrick, K. R. (2011). Health status of native fish (*Percilia gillissi* and *Trichomycterus areolatus*) downstream of the discharge of effluent from a tertiary-treated elemental chlorine-free pulp mill in Chile. *Environmental Toxicology*, 30(8), 1793–1809.
- Chugunova, N. I. (1963). Age and growth studies in fish, Israel Program Scientific Translation. Washington: *National Science Foundation*.
- Chu-Koo, F., Dugué, R., Aguilar, M. A., Daza, A. C., Bocanegra, F. A., Veintemilla, C. C., Duponchelle, F., Renno, J. F., Tello, S. and Nunez, J. (2009). Gender determination in the paiche or pirarucu (*Arapaima gigas*) using plasma vitellogenin, 17 β -estradiol, and 11-ketotestosterone levels. *Fish Physiology Biochemistry*, 35, 125–136.
- Colborn, T., vom Saal, F. S. and Soto, A. M. (1993). Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans, *Environmental Health Perspectives*, 101(5), 378-384.
- Çavaş, T. ve Ergene-Gözükar, S. (2003). Micronuclei, nuclear lesions and interphase silver-stained nucleolar organizer regions (AgNORs) as cyto-genotoxicity indicators in *Oreochromis niloticus* exposed to textile mill effluent. *Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 538(1-2), 81-91.

- Çavaş, T. ve Könen, S. (2014). Detection of cytogenetic and DNA damage in peripheral erythrocytes of goldfish (*Carassius auratus*) exposed to a glyphosate formulation using the micronucleus test and the comet assay. *Mutagenesis*, 22(4), 263-268.
- Çavaş T., Garanko, N.N. and Arkhipchuk, V.V. (2005). Induction of micronuclei and binuclei in blood, gill and liver cells of fishes subchronically exposed to cadmium chloride and copper sulphate. *Food and Chemical Toxicology*, 43(4), 569–574.
- Çek, Ş. ve Sarihan, F. (2010). Endokrin sistemi bozan kimyasallardan cinsiyet steroidlerinin balıklardaki etkileri. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 27(1), 41-46.
- Çetinkaya, S. (2009). Endokrin çevre bozucular ve ergenlik üzerine etkileri. *Dicle Tıp Dergisi*, 1, 59-66.
- Diler , Ö. ve Özen, M. R. (2002). Eğirdir Gölü'nde ağ kafeslerde kültüre alınan aynalı sazanlarda (*Cyprinus carpio*) görülen epidermal papillomanın histopatolojisi. *Turk Journal of Veterinary Animal Science*, 26, 1207-1211.
- De Guise, S., Martineau, D., Beland, P. and Fournier, M. (1995). Possible mechanisms of action of environmental contaminants on St. Lawrence Beluga Whales (*Deiphinapterus leucas*). *Environmental Health Perspectives*, 103(4), 73-77.
- Dostbil, M., Benli, A. Ç. K. (2010, 21-25 Haziran). Mogan gölünde yaşayan sazan (*Cyprinus carpio*) balıklarının solungaçlarının histolojik olarak incelenmesi, 20. *Ulusal Biyoloji Kongresinde Sunuldu*. Denizli.
- Duman, E. ve Şen, D. (2002). Keban Baraj Gölü'nde yaşayan *Carassius auratus* (L., 1758)' da karşılaştırmalı yaş tayini. *Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 22(3), 11-18.
- Fakioğlu, Ö. ve Polatsü, S. (2005). Mogan Gölü'nde (Ankara) bazı restorasyon önlemleri sonrası dış kaynaklı fosfor yükünün belirlenmesi. *Journal of Agriculturel. Science*, 15(1), 63-69.
- Fenech, M. (2000). The in vitro micronucleus technique. *Mutation Research*, 455, 81-95.
- Fenech, M., Holland, N., Chang, W. P., Zeiger, E. and Bonassi, S. (1999). The human micronucleus project-an international collaborative study on the use of micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. *Mutation Research*, 428, 271-283.
- Garcia, M.P., Echevarria, G., Martinez, F.J. and Zamora, S. (1992). Influence of blood sample collections on the hematocrit value of two teleosts: rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and european sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.,1758). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 101(4), 733-736.
- Grisolia, C. K. (2002). A comparison between mouse and fish micronucleus test using cyclophosphamide, mitomycin C and various pesticides. *Mutation Research*, 518, 145-150.

- Hachfi, L. Couvray, S., Simide, R., Tarnowska, K., Pierre, S., Gaillard, S., Richard, S., Coupé, S., Grillasca, J. P. and Prévot-D'Alvise, N., (2012). Impact of endocrine disrupting chemicals [EDCs] on hypothalamic-pituitary-gonad-liver [HPGL] axis in fish. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 4(1), 14-30.
- Hamalosmanoğlu, M. ve Kuru, M. (2004). Mogan Gölü'nde yaşayan kadife balığının (*Tinca tinca* L., 1758) karyotip analizi ve idiogramı. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 28, 143-147.
- Hennies, M., Wiesmann, M., Allner, B. and Sauerwein, H. (2003). Vitellogenin in carp (*Cyprinus carpio*) and perch (*Perca fluviatilis*): purification, characterization and development of an ELISA for the detection of estrogenic effects. *The Science of The Total Environment*, 309(1-3), 93-103.
- Haşiloğlu, M.A. ve Atamanalp, M. (2002). Demirdöven Baraj Gölü (Erzurum) tatlısu kefali (*Leuciscus cephalus*) popülasyonu hematolojik parametrelerinin belirlenmesi. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 17(2), 34-38.
- Heddle, J.A., Cimino, M.C., Hayashi, M., Romagna, F., Shelby, M.D., Tucker, J.D., Vanparys, P. and MacGregor, J.T. (1991). Micronuclei as an index of cytogenetic damage: past, present, and future. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 18(4), 277-291.
- Huber, A., Bach, M. and Frede, H. G. (2000). Pollution of surface waters with pesticides in Germany: modeling non-point source inputs. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 80, 191-204.
- Jobling, S., Casey, D., Rodgers-Gray, T., Oehlmann, J., Schulte-Oehlmann, U., Pawlowski, S., Baunbeck, T., Turner, A.P. and Tyler, C.R. (2004). Comparative responses of molluscs and fish to environmental estrogens and an estrogenic effluent. *Aquatic Toxicology*, 66, 207-222.
- Jobling, S., Nolan, M., Tyler, C. R., Brighty, G. and Sumpter, J. P. (1998). Widespread sexual disruption in wild fish. *Environmental Science and Technology*, 32, 2498-2506.
- Kakuta, I., Ishii, K. And Murachi, S. (1994). Effects of diluted sewage on biochemical parameters of Carp, *Cyprinus carpio*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 107(2): 289- 294.
- Kandemir, Ş., Örün, İ., Talas., Örün, G., Erdoğan K., Işık, M., Altaş L. ve Duran, A. (2010). Effects on mortality of biochemical and limnological properties on some fish species in Sultansuyu Dam Lake (Malatya), Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 10, 431-437.
- Karakoç, G., Erkoç, F. Ü. ve Katırcıoğlu, H. (2002). Water quality and impacts of pollution sources for Eymir and Mogan Lakes (Turkey). *Environment International*, 29(1), 21-27.

- Karaman, S. (2005). Tokat yöresinde hayvan barınaklarından kaynaklanan çevre kirliliği ve çözüm olanakları. *Gazi Osman Paşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22(2), 57-65.
- Keleştemur, G. T. ve Özdemir, Y. (2010). Düşük oksijen seviyesinin gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792) yavrularının bazı kan parametre değerlerine etkisi. *Journal of Fisheries Sciences*, 4(4), 310-317.
- Keymer, I., Wells, G., Mason, C. and Macdonald, S. M. (1988). Pathological changes and organochlorine residues in tissues of wild otters (*Lutra lutra*). *Veterinary Record*, 122, 153-155.
- Kocataş, A. (2012). Ekoloji Çevre Biyolojisi. Bursa: *Dora Yayınları*.
- Kubilay, A. ve Uluköy, G. (2002). The effects of acute stress on rainbow trout. *Turkish Journal of Zoology*, 249-254.
- Kumbur, H., Özsoy, H. D. ve Özer, Z. (2008). Mersin İli'nde tarımsal alanlarda kullanılan kimyasalların su kalitesi üzerine etkilerinin belirlenmesi. *Ekoloji*, 17(68), 54-58.
- LaBlanc, G. A. (2007). Crustacean endocrine toxicology: a review. *Ecotoxicology*, 16(1), 61-81.
- Lagler, K. F. (1956). Freshwater Fishery Biology. Dubuque, Iowa: WMC. *Brown Company Publications*.
- Le Page, Y., Vosges, M., Servili, A., Brion, F. and Kah, K. (2011). Neuroendocrine effects of endocrine disruptors in teleost fish. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B: Critical Reviews*, 14(5-7), 370-386.
- Malla Reddy, P., Bashamohideen, M. (1989). Fenvalerate and cypermethrin induced changes in the haematological parameters of *cyprinus carpio*. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, 17(1), 101-107.
- Maltais, D. and Roy, R.L. (2007). A lateral flow immunoassay for rapid evaluation of vitellogenin levels in plasma and surface mucus of the copper redhorse (*Moxostoma hubbsi*). *Environmental Toxicology And Chemistry*, 26, 1672-1676.
- Maltais, D. and Roy, R.L. (2009). Purification and partial characterization of vitellogenin from shorthead redhorse (*Moxostoma macrolepidotum*) and copper redhorse (*Moxostoma hubbsi*) and detection in plasma and mucus with a heterologous antibody. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35, 241-250.
- Marino, M., Pellegrini, M., La Rosa, P. and Acconcia, F. (2012). Susceptibility of estrogen receptor rapid responses to xenoestrogens: physiological outcomes. *Steroids*, 77(10), 910-917.
- Martyniuk, C. J., Alvarez, S., Lo, B. P., Elphick, J. R. and Marlatt, V. L. (2012). Hepatic protein expression networks associated with masculinization in the female fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Journal of Proteome Reserch*, 11(8), 4147-4161.

- Matsumoto, S. T., Mantovani, M. S., Malagutti, M.I. A., Dias, A. L., Fonseca, I. C. and Marin-Morales, M. A. (2006). Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. *Genetics and Molecular Biology*, 29(1), 148-158.
- Meucci, V. and Arukwe, A. (2005). Detection of vitellogenin and zona radiata protein expressions in surface mucus of immature juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) exposed to waterborne nonylphenol. *Aquatic Toxicology*, 73(1), 1-10.
- Nagler, J.J., Ruby, S.M., Idler, D.R. and So, Y.P. (1987). Serum phosphoprotein phosphorous and calcium levels as reproductive indicators of vitellogenin in highly vitellogenic mature female and estradiol-injected immature rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Canadian Journal of Zoology*, 65(10), 2421-2425.
- Ndiaye, P., Forgue, J., Lamothe, V., Cauty, C., Tacon, P., Lafon, P., Davail, B., Fostier, A., Le Menn, F. and Nunez, J. (2006). Tilapia (*Oreochromis niloticus*) vitellogenins: development of homologous and heterologous ELISAs and analysis of vitellogenin pathway through the ovarian follicle. *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology*, 305A(7), 576-593.
- Puy-Azurmendi, E., Ortiz-Zarragoitia, M., Villagrasa, M., Kuster, M., Aragón, P., Atienza, J., Puchades, R., Maquieira, A., Domínguez, C., López de Alda, M., Fernandes, D., Porte, C., Bayona, J. M., Barceló, D. and Cajarville, M. P. (2013). Endocrine disruption in thicklip grey mullet (*Chelon labrosus*) from the Urdaibai Biosphere Reserve (Bay of Biscay, Southwestern Europe). *The Science of the Total Environment*, 233-244.
- Roubal, W.T., Lomax, D.P., Willis, M.L. and Johnson, L.L. (1997). Purification and partial characterization of English sole (*Pleuronectes vetulus*) vitellogenin. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 118(3), 613-622.
- Schiffmann, D. and De Boni, U. (1991). Dislocation of chromatin elements in prophase induced by diethylstilbestrol: a novel mechanism by which micronuclei can arise. *Mutation Research*, 246(1), 113-122.
- Sepici-Dincel, A., Sahin, D., Benli, A.C.K., Sarikaya, R., Selvi, M., Erkoc, F. ve Altan, N. (2011). Genotoxicity assessment of carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) fingerlings by tissue DNA damage and micronucleus test, after environmental exposure to fenitrothion. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 21(5): 388-392.
- Shakoori, A.R., Mughal, A.L. and Iqbal, M.J. (1996). Effects of sublethal doses of fenvalerate (a synthetic pyrethroid) administered continuously for four weeks on the blo, liver and muscles of a freshwater fish, *Ctenopharyngodon idella*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 57, 487- 494.
- Stopper, H. and Müller, S. O. (1997). Micronuclei as a biological endpoint for genotoxicity: a minireview. *Toxicology in Vitro*, 11, 661-667.

- Şahan, A., Altun, T. ve Nevşat, İ. E. (2009). Ceyhan Nehri (Adana-Türkiye)'nin farklı bölgelerinden yakalanan bazı Cyprinidae'lerde lökosit hücre tiplerinin belirlenmesi. *Journal of Fisheries Sciences.com*, 3(2), 134-145.
- Şekeroğlu, V. ve Şekeroğlu, Z. A. (2011). Genotoksik hasarın belirlenmesinde mikronükleus testi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 68(4), 241-252.
- Teilmann, G., Juul, A., Skakkebak, N. E. and Toppari, J. (2002). Putative effects of endocrine disrupters on pubertal development in the human. *Best Practise and Research Clinical Endocrinology and Metabolism*, 16(1), 105-121.
- Temelli, A. ve Kurt, M. (2012). Genel Histoloji Atlası. 2. Baskı, Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim ve Danışmalık.
- Tepe, Y., Ateş, A., Mutlu, E. ve Töre, Y. (2006). Hasan çayı (Erzin-Hatay) su kalitesi özellikleri ve aylık değişimleri. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 23(1), 149-154.
- Trudeau, V. L., Kah, O. and Bourguignon, J. P. (2011). Neuroendocrine disruption: the emerging concept. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B: Critical Reviews*, 14, 267-269.
- TSE, 266. Su - İnsani tüketim amaçlı sular. *Türk Standartları Enstitüsü*. TS 266, 2005.
- Türker, H. ve Bozcaarmutlu, A. (2009). Effect of total isoflavones found in soybean on vitellogenin production in common carp. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(4), 561-568.
- Tyler, C. R., Jobling, S. and Sumpter, J. P. (1998). Endocrine disruption in wildlife: a critical review of the evidence. *Critical Reviews in Toxicology*, 29(4), 319-361.
- Tyler, C. R. and Sumpter, J. P. (1990). The development of a radioimmunoassay for carp, *Cyprinus carpio*, vitellogenin. *Fish Physiology and Biochemistry*, 8(2), 129-140.
- Tyler, C. R. and Sumpter, J. P. (1996). Oocyte growth and development in teleosts. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 6, 287-318.
- Tyler, C. R., van der Eerden, B., Jobling, S., Panter, G. and Sumpter, J. P. (1996). Measurement of vitellogenin, a biomarker for exposure to oestrogenic chemicals, in a wide variety of cyprinid fish. *Journal of Comparative Physiology B*, 166, 418-426.
- United States Environmental Protection Agency (US EPA), (2002). *National Recommended Water Quality Criteria EPA-822-R-02-047*.
- Vural, N. (2005). Toksikoloji. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*. Ankara.
- World Health Organization (WHO), (1996) Guides for drinking water quality (2nd ed.), Vol. 2, Australia. Geneva: *World Health Organization*.

- Yağcı, M., Alp, A., Uysal, R., Yeğen, V. ve Yağcı, A. (2009). Işıklı Baraj Gölü'ndeki (Çivril- Denizli/Türkiye) turna (*Esox lucius L.*, 1758) populasyonunun üreme özellikleri. *Journal of FisheriesSciences.com*, 3(3), 220-230.
- Yalçın, T. (2009). Reyhanlı Yenişehir Gölü (Hatay) su kalitesinin belirlenmesi. *Ekoloji*, 18(70), 30-46.
- Yenilmez, F., Keskin, F. ve Aksoy, A. (2010). Meteorolojik koşulların Mogan Gölü su kalitesine etkileri. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 3(2), 33-38.
- Yeşilkaya, E. (2008). Endokrin bozucular. *Güncel Pediatri*, 76-82.
- Yıldırım, A. ve Yıldırım, M. S. (2011). Matbaa sanayiinde çalışan işçilerin bukkal mukoza hücrelerinde mikronükleus ve binükleotid sıklığının belirlenmesi. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 9(1), 25-28.
- Yılmaz, M. ve Gül, A. (2001). Hirfanlı Baraj Gölü (Kırşehir)'nde yaşayan *Sander lucioperca* (L.,1758)'nın üreme özellikleri. *Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 21(3), 19-32.
- Yüzeysel Su Kalitesi Yönetimi Yönetmeliği (YSKYY)*, (30 Kasım 2012). T.C. Resmi Gazete, 28483. (EK-5). URL: <http://www.webcitation.org/6RJ5aQkED>, Son Erişim Tarihi: 19 Mayıs 2014.
- Zhou, J., Shan Zhu, X. and Cai, Z. H. (2009). Endocrine disruptors: an overview and discussion on issues surrounding their impact on marine animals. *Journal of Marine Animals and Their Ecology*, 2(2), 7-17.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : GÜL, Göktuğ
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 09.03.1982, Elazığ
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 0 (312) 484 56 35 /179
 Faks : 0 (312) 484 36 49
 e-mail : goktugul@gazi.edu.tr



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi /Çevre Bil. A.B.D.	Devam Ediyor
Lisans	Mustafa Kemal Üniversitesi/ Su Ür. Fak.	2008
Lise	Gaziçiiftliği Lisesi	2000

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2011-Halen	Gazi Üniversitesi	Öğretim Görevlisi
2009-2010	Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı	Mühendis
2007-2008	Aşlı Su Biy. Ür. Tic. Ltd. Şti.	Ar-Ge Sorumlusu

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Semra Benzer, Nurcan Uzel, Göktuğ GÜL, Kızılırmak Nehri Devres Çayı'nda yaşayan *Albornoides bipunctatus* (Bloch, 1782)'un Büyüme Özellikleri, FABA2011 Balıkçılık ve Akuatik Bilimler, SAMSUN, (2011).

Semra BENZER, Ali GÜL, Mehmet YILMAZ, Nurcan UZEL, Göktuğ GÜL, Sakarya Nehri Kirmir Çayı'nda Yaşayan *Barbus plebejus* (Bonaparte, 1839)'un Büyüme Özellikleri, 16. Su Ürünleri Sempozyumu Akdeniz Üniversitesi ANTALYA, (2011).

Göktuğ GÜL, Aysel Çağlan Karasu, Mogan Gölü'nde yaşayan ekonomik balık türlerinde eritrosit mikronükleus testi ile genotoksik etkilerin belirlenmesi, III. Ulusal Sulak Alanlar Kongresi, SAMSUN, (2013).

Ramazan Mert, Aysel Çağlan Karasu, Göktuğ Gül, Belda Erkmen, Ömer Saylar, Pınar

Arslan, Figen Erkoç, Cyprinidae familyasından sazan (*Cyprinus carpio* L., 1758) ve kadife (*Tinca tinca* L., 1758) balıklarının endokrin bozucu aktivite gösteren ksenobiyotiklerin biyobelirteci olarak elektroforetik incelenmesi, III. Ulusal Sulak Alanlar Kongresi, SAMSUN, (2013).

Projeler

Su kirliliğinin tatlısu balıklarının üreme biyolojisi üzerine etkilerinin araştırılması, Yardımcı Araştırmacı, Bilimsel Araştırma Projeleri, Gazi Üniversitesi (2013).

Cypermethrinin sinerjide edilmiş ve teknik formülasyonunun *Poecilia reticulata*'un solungaçları üzerine toksik etkilerinin karşılaştırılması, Yardımcı Araştırmacı, Bilimsel Araştırma Projeleri, Gazi Üniversitesi (2013).

Mesleki eğitimde kaliteyi artırma projesi, Uzman, Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı AB Proje Koordinasyon Birimi (2011).

Trabzon İli İyidere Çayı üzerinde kurulmuş olan Nehir Tipi Hidroelektrik Santrallerinin Çevresel Etkilerinin Araştırılması, Orman ve Su İşleri Bakanlığı Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü (2011).

Verdiği Dersler:

Hidroloji, İçme Suyu ve Halk Sağlığı, Ekoloji, Atık Su Arıtımı, Katı Atıklar, Teknik Resim, Bilgisayar Uygulamaları, Temel Bilgi Teknolojileri Kullanımı, Bilgi ve İletişim Teknolojisi

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	5
2.1. Çevresel Kirlilik	3
2.2. Mogan Gölü	6
2.3. Mogan Gölü'nde Yaşayan ve Ekonomik Öneme Sahip Balık Türleri.....	7
2.3.1. Sazan (<i>Cyprinus carpio</i> L.,1758).....	7
2.3.2. Havuz Balığı (<i>Carassius carassius</i> L., 1758)	7
2.3.3. Kadife (<i>Tinca tinca</i> (L., 1758)).....	7
2.3.4. Turna (<i>Esox lucius</i> (L., 1758))	7
2.4. Mikronükleus	8
2.5. Endokrin Bozucu Kirleticiler	10
2.5.1. Endokrin bozucu kirleticilerin çalışma prensipleri	13
2.6. Balıklarda Üreme Sistemi	16
2.7. Balıklarda Vitellogenez.....	18
2.8. Vitellogenin ve Biyokimyası.....	20
2.9. Çalışmanın Amacı	21
3. MATERYAL VE YÖNTEM	23

	Sayfa
3.1. Çalışma Alanı.....	23
3.2. Su Numunesi Alınması	24
3.3. Balık Örneklerinin Temini ve Ölçümler	25
3.4. Yaş Tayini	26
3.5. Kan Alma	27
3.6. Hematokrit Analizi.....	27
3.7. Eritrosit Mikronükleus Testi	28
3.8. Elektroforez Yöntemi ile Vitellogenin Analizi	28
3.9. Histolojik İnceleme	33
4. BULGULAR	35
4.1. Su Analiz Sonuçları.....	35
4.2. Balıklar.....	40
4.2.1. <i>Cyprinus carpio</i>	40
4.2.2. <i>Carassius carassius</i>	41
4.2.3. <i>Tinca tinca</i>	42
4.2.4. <i>Esox lucius</i>	42
4.3. Hematokrit Ölçümleri	43
4.4. Eritrosit Mikronükleus Testi	44
4.5. Elektroforez Sonuçları	45
4.6. Histolojik Bulgular	46
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	57
KAYNAKLAR	59
ÖZGEÇMİŞ	69

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Başlıca endokrin bozucular.....	13
Çizelge 4.1. Su kalite parametreleri ölçüm sonuçları	35
Çizelge 4.2. Balık dokularında tespit edilen anomaliler	47

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Üreme homeostazisi.....	12
Şekil 2.2. EDC'lerin üreme sistemine etkileri	18
Şekil 2.3. Oosit gelişimi.....	18
Şekil 4.1. Su sıcaklığı-pH ilişkisi.....	36
Şekil 4.2. Su sıcaklığı-Çözünmüş O ₂ ilişkisi	36
Şekil 4.3. Elektriksel iletkenlik-Toplam çözünmüş katı madde ilişkisi.....	37
Şekil 4.4. Toplam sertlik-Alkanite ilişkisi	38
Şekil 4.5. Brom, bakır, çinko ve demirin 5 aylık analiz sonuçları karşılaştırması	38
Şekil 4.6. Mogan Gölü'nde Nitrit-Nitrat ilişkisi	40
Şekil 4.7. <i>C. carpio</i> boy-ağırlık karşılaştırması	41
Şekil 4.8. <i>C. carassius</i> boy-ağırlık karşılaştırması	41
Şekil 4.9. <i>C. carassius</i> vücut-gonad ağırlığı karşılaştırması.....	42
Şekil 4.10. <i>T. tinca</i> örneklerine ait boy-ağırlık ilişkisi	42
Şekil 4.11. <i>E. lucius</i> boy-ağırlık karşılaştırması	43
Şekil 4.12. <i>E. lucius</i> vücut-gonad ağırlığı karşılaştırması	43
Şekil 4.13. MN frekans grafiği	45

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Mogan Gölü’nde seçilen istasyonların görünümü	24
Resim 3.2. Su numunesi alınması	25
Resim 3.3. Balıklar ve muhafaza kafesi.....	25
Resim 3.4. Vücut ölçümleri	26
Resim 3.5. Binoküler mikroskopta <i>C. carpio</i> pul görüntüsü	26
Resim 3.6. Kaudal vena’dan kan alımı	27
Resim 3.7. Biometra marka dikey elektroforez cihazı.....	29
Resim 3.8. Cam plakaların jel dökümü için hazırlanması	29
Resim 3.9. Jellerde kuyu oluşumu için tarakların yerleştirilmesi.....	31
Resim 3.10. Boya ve proteinin karıştırılması.....	31
Resim 3.11. Proteinlerin kuyulara yüklenmesi	32
Resim 3.12. Biosan MultiBio 3D karıştırıcı	33
Resim 3.13. <i>E. lucius</i> gonadı	33
Resim 4.1. Mikronükleus görünümü	44
Resim 4.2. VTG tespiti yapılan jel görüntüsü-1	45
Resim 4.3. VTG tespiti yapılan jel görüntüsü-2	46
Resim 4.4. <i>C. carpio</i> ovaryumda ooforitis.....	47
Resim 4.5. <i>C. carpio</i> peritonda peritonitis.....	47
Resim 4.6. <i>C. carpio</i> böbrekde hemoraji	48
Resim 4.7. <i>C. carpio</i> solungaçta branşitis ve sekonder lamellada epitel ayrılması	48
Resim 4.8. <i>C. carpio</i> karaciğerde hidropik dejenerasyon	48
Resim 4.9. <i>C. carassius</i> testislerde boşalma	48
Resim 4.10. <i>C. carassius</i> ovaryumun bazal membrandan ayrılması	48

Resim	Sayfa
Resim 4.11. <i>C. carassius</i> karaciğerde pasif hiperemi	48
Resim 4.12. <i>C. carassius</i> solungaçta sekonder lamellada hiperemi ve epitel ayrılma	49
Resim 4.13. <i>T. tinca</i> Ovaryumda Bazal Membran Ayrılması.....	49
Resim 4.14. <i>T. tinca</i> Ovaryumda Ooforitis.....	49
Resim 4.15. <i>T. tinca</i> solungaçta sekonder lamellada epitel ayrılması ve hiperplazi.....	49
Resim 4.16. <i>T. tinca</i> solungaçta sekonder lamellada epitel ayrılması	49
Resim 4.17. <i>E. lucius</i> testislerde boşalma.....	49
Resim 4.18. <i>E. lucius</i> karaciğerde hidropik dejenerasyon	50
Resim 4.19. <i>E. lucius</i> testislerde siyonitik atrofitis.....	50
Resim 4.20. <i>E. lucius</i> testislerde dejenerasyon	50
Resim 4.21. <i>E. lucius</i> solungaçlarda hiperemi ve füzyon	50