

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TRİBENURON METİLİN ZEBRA BALIĞI
GELİŞİMİNDEKİ TERATOLOJİK ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Burcu ÖZTÜRK

Enstitü Anabilim Dalı : BİYOLOJİ

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Nazan Deniz YÖN ERTUĞ

Haziran 2019

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TRİBENURON METİLİN ZEBRA BALIĞI
GELİŞİMİNDEKİ TERATOLOJİK ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Burcu ÖZTÜRK

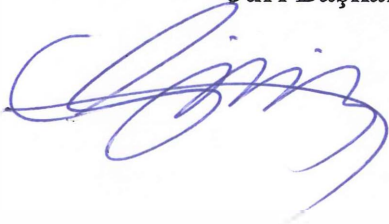
Enstitü Anabilim Dalı : BİYOLOJİ

Enstitü Bilim Dalı : BİYOLOJİ

Bu tez 11/06/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

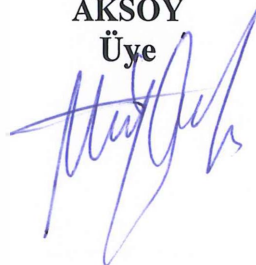
Doç.Dr.Figen Esin KAYA

Jüri Başkanı



Doç.Dr.Hüseyin
AKSOY

Üye



Doç.Dr.Nazan Deniz
YÖNERTUĞ

Üye



BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Burcu ÖZTÜRK

11/06/2019

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda bilgi ve desteğini almaktan çekinmediğim, araştırmanın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen, titizlikle beni yönlendiren değerli danışman hocam Doç. Dr. Nazan Deniz YÖN ERTUĞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca sabırla ve istekle bana birçok bilgi kazandıran Araş. Gör. Tarık DİNÇ'e teşekkür ederim. Embriyo alanında yol gösteren, birçok laboratuvar tekniğini öğrenmemi sağlayan Araş. Gör. Dr. Cansu AKBULUT'a teşekkür ederim.

Ayrıca eğitim-öğretim sürecinde beni maddi ve manevi her anlamda destekleyen, tek arkadaşım, hayatımda gölgesinde nefes alıp dinlendiğim tek ağacım annem Nurtaç ÖZTÜRK'e ve bu süreçte destekte bulunan babam Ömer ÖZTÜRK ile kardeşim Buket ÖZTÜRK'e teşekkür ederim. Tezime küçük dokunuşlar yaparak deney sürecinde yanımda olan kardeş bildiğim Pelin KARABULUT'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
TABLolar LİSTESİ.....	x
GRAFİKLER LİSTESİ.....	xi
ÖZET.....	xii
SUMMARY	xiii
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2.	
GENEL BİLGİLER	3
2.1. Pestisitler	3
2.1.1. Herbisitler.....	4
2.2. Tribenuron Metil	4
2.2.1. Bilimsel, teknik ve ticari adı	4
2.2.2. Tribenuron metilin fiziksel, kimyasal ve toksikolojik özellikleri.....	5
2.2.3. Tribenuron metilin başlıca kullanım alanları	5
2.3. Zebra Balığının Genel Özellikleri	5
2.3.1. Zebra balığının sistematığı	5
2.3.2. Zebra balığının biyolojisi ve morfolojisi.....	6
2.4. Zebra Balığı Gelişim Aşamaları.....	7
2.4.1. Zigot evresi.....	7

2.4.2. Segmentasyon (yarıklanma) evresi	8
2.4.3. Morula ve blastula evresi	9
2.4.4. Gastrula evresi.....	10
2.4.5. Faringula evresi	12
2.4.6. Kuluçka evresi.....	12
2.4.7. Larval evre.....	13
2.4.8. Genç (juvenil) evre.....	13
2.4.9. Ergin evre	14

BÖLÜM 3.

MATERYAL VE METOD	15
3.1. Materyal	15
3.1.1. Zebra balığı (<i>Danio rerio</i>).....	15
3.1.2. Tribenuron metil.....	15
3.2. Metod	15
3.2.1. Deney düzeneğinin oluşturulması	15
3.2.2. Embriyo ve larval toksisite testi	16
3.2.3. İstatistiksel analiz	17
3.2.4. Embriyo ve larvalara tribenuron metilin uygulanması.....	17

BÖLÜM 4.

BULGULAR.....	18
4.1. Zebra Balığında Gelişim Evreleri	18
4.1.1. Kontrol grubu	18
4.1.2. 0,056 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış grup	20
4.1.3. 0,113 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış grup	21
4.1.4. 0,226 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış grup	23
4.1.5. 0,453 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış grup	25
4.1.6. 0,906 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış grup	26
4.1.7. 1,812 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış grup	27
4.2. İstatistiksel Bulgular.....	28

BÖLÜM 5.	
TARTIŞMA	31
KAYNAKÇA.....	35
ÖZGEÇMİŞ	38

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

b	:	Baş
cm	:	Santimetre
dk	:	Dakika
dpf	:	Döllenmeden sonra gün
g	:	Gram
hpf	:	Döllenmeden sonra saat
k	:	Kuyruk
ko	:	Koryon
L	:	Litre
Mg	:	Milligram
mL	:	Mililitre
sn	:	Saniye
vk	:	Vitellus kesesi

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Tribenuron metilin yapısal formülü	4
Şekil 2.2. Erkek zebra balığında genital papilla.....	6
Şekil 2.3. Dişi zebra balığında genital papilla.....	7
Şekil 2.4. Zebra balığının döllenmiş yumurtası (Kimmel ve ark., 1995).....	8
Şekil 2.5. Zebra balığı embriyosunda segmentasyon ve morula evreleri A) 2 blastomerli safha (0,75saat) B) 4 blastomerli safha (1 saat) C) 8 blastomerli safha (1,25 saat) D) 16 blastomerli safha (1,5 saat) E) 32 blastomerli safha (1,75 saat) F) 64 blastomerli safha (morula evresi) (2saat) (Kimmel ve ark., 1995).....	9
Şekil 2.6. Zebra balığında morula blastula evreleri a) 256 blastomerli evre (2,5 saat), b) tümsek evresi (3,3 saat), c) tümsek ve çevreleme evreleri arasında geçiş (3,5 saat), d) çevreleme ve küresel evreler arasında geçiş (3,8 saat), e) kubbe evresi ok yönünde (4,3 saat), ektodermin girinti (ok yönü), f) %30 epiboli (4,7 saat) (Kimmel ve ark., 1995). ...	10
Şekil 2.7. Zebra balığı embriyosunda gastrulasyon A) %50 epiboli (5,25. saat) B) Germ halka evresi (5,7. saat) C) Germ halka evresinin animal kutuptan görünümü D) Kalkan evresi (6. saat) E) Kalkan evresinin animal kutuptan görünümü F) %75 epiboli (8. saat), G) %90 epiboli (9. saat) Bu evrede ok yönünde kuyruk tomurcuğu gözlemlenmeye başlar. H) Tomurcuk evresi ok yönünde (10. saat) (Kimmel ve ark., 1995).....	11
Şekil 2.8. Zebra balığında somitlerin oluşumu A) 3 somitli safha (11. saat) B) 6 somitli safha (12.saat) C) 10 somitli safha (14. saat) D) 14 somitli safha (16. saat) E) 18 somitli safha (18. saat) F)21 somitli safha (19,5. saat) G) prim-6 safha (25. saat) H) prim-16 safha (31. saat) (Kimmel ve ark., 1995).....	12

Şekil 2.9. Zebra balığı larvası	13
Şekil 2.10. A: Erkek zebra balığı, B: Dişi zebra balığı	14
Şekil 4.1. Zebra balığı embriyosu 24 saatlik; b: baş bölgesi, k: kuyruk, v: vitellüs	18
Şekil 4.2. 2 günlük zebra balığı embriyosu.....	19
Şekil 4.3. 3 günlük zebra balığı embriyosunun koryondan çıkışı	19
Şekil 4.4. 4 günlük zebra balığı.....	20
Şekil 4.5. 0,056 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış embriyo ve larvaları a) Gelişim geriliği, b) Yetersiz pigment oluşumu, c) Zebra balığı prelarvası 3.gün koryondan çıkışında gecikme, d) Zebra balığı prelarvası 4.gün koryondan çıkış	21
Şekil 4.6. 0,113 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış embriyo ve larvaları a) 1.gün Zebra balığı prelarvası gelişim geriliği, ödem oluşumu (okla gösterildi) b) 2.gün Zebra balığı prelarvası yetersiz pigment oluşumu ve perikardiyal ödem (okla gösterildi), c)3.gün Zebra balığı prelarvası koryondan çıkışında gecikme ve perikardiyal ödemde büyüme (okla gösterildi), d) 4.gün Zebra balığı prelarvası ve perikardiyal ödem (okla gösterildi).....	22
Şekil 4.7. 0,113 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış 4.gün Zebra balığı prelarvası perikardiyal ödemin genişliği (çizgiyle gösterildi).....	22
Şekil 4.8. 0,113 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış 5.gün Zebra balığı prelarvası koryondan çıkışı.....	23
Şekil 4.9. 0,226 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış embriyo ve larvaları a) 1.gün Zebra balığı prelarvası gelişim geriliği, baş oluşumunun belirgin olmaması (okla gösterildi) b) 2.gün Zebra balığı prelarvası yetersiz pigment oluşumu ve perikardiyal ödem (okla gösterildi), c)3.gün Zebra balığı prelarvası koryondan çıkışında gecikme ve perikardiyal ödemde büyüme (okla gösterildi), d) 5.gün Zebra balığı embriyosunda perikardiyal ödem (kare içerisinde gösterildi), kuyruğunda eğrilik(okla gösterildi).....	24
Şekil 4.10. 0,226 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış 5.gün Zebra balığı embriyosunda perikardiyal ödem (daire içerisinde gösterildi),	

vitellüs kesesinde kısmen ödem (şişlik mesafesi çizgi ile gösterildi), omurgada eğrilik(okla gösterildi).....	24
Şekil 4.11. 0,453 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış embriyo ve larvaları a) 1.gün Zebra balığı prelarvası gelişim geriliği, vitellüs kesesinde ödem (okla gösterildi) b) 3.gün Zebra balığı prelarvası perikardiyal ödem ve içerisinde kanlanma (okla gösterildi), c) 5.gün Zebra balığı embriyosunda koryondan çıkan balığın kuyruğunda eğrilik (okla gösterildi), perikardiyal ödem(çemberle gösterildi), vitellüs kesesinde ödem (çizgiyle gösterildi), d) 5.gün Zebra balığı embriyosunda omurgada eğrilik (okla gösterildi).	25
Şekil 4.12. 0,906 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış embriyo ve larvaları a) 1.gün Zebra balığı prelarvası vitellüs kesesinde ödem (çizgiyle gösterildi) b) 3.gün Zebra balığı prelarvası perikardiyal ve vitellüs kesesi ödem (okla gösterildi), omurga ile kuyrukta eğrilik (kare içerisinde gösterildi) c) 4.gün Zebra balığı embriyosunda koryondan çıkan balığın kuyruğunda ve omurgasında eğrilik (daireyle gösterildi), perikardiyal ödem, vitellüs kesesinde ödem (okla gösterildi), d) 5.gün koryondan henüz çıkmış Zebra balığı embriyosunda omurgada eğrilik (daireyle gösterildi), gelişim geriliği(kareyle gösterildi), perikardiyal ve vitellüs kesesinde ödem(okla gösterildi).	26
Şekil 4.13. 0,906 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış 5. gün koryondan çıkmış embriyonun omurgasında hasar ile birlikte kan birikimi (kareyle gösterildi).	27
Şekil 4.14. 1,812 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış embriyo ve larvaları a) 1.gün Zebra balığı prelarvası vitellüs kesesinde ödem (çizgiyle gösterildi) b) 2.gün Zebra balığı vitellüs kesesi ödem (okla gösterildi), omurga ile kuyrukta eğrilik (kare içerisinde gösterildi) c) 2.gün Zebra balığı embriyosunun kuyruğunda ve omurgasında eğrilik (kareyle gösterildi), vitellüs kesesinde ödem (okla gösterildi), belirgin göz ve baş yapısının oluşmaması (daireyle gösterildi) d) 2.gün Zebra balığı embriyosunda omurgada ve	

kuyrukta eğrilik (daireyle gösterildi), vitellüs kesesinde ödem (okla gösterildi)	28
--	----

TABLolar LİSTESİ

Tablo 4.1. * Kontrol Grubundan $p < 0,05$ düzeyinde istatıksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir.	29
--	----

GRAFİKLER LİSTESİ

Grafik 4.1. Tribenuron metil uygulanmış zebra balığı embriyolarına koryondan çıkışı	29
Grafik 4.2. Tribenuron metil uygulanmış zebra balığı embriyolarının ölüm oranı.....	30
Grafik 4.3. Tribenuron metil uygulanmış zebra balığı embriyolarının gelişimsel anomalileri.....	30

ÖZET

Anahtar kelimeler: Tribenuron Metil, Zebra Balığı (*Danio rerio*), Embriyo, Teratoloji

Son yıllarda tarımda pestisit ve çeşitlerinin kullanımı artmaktadır. Özellikle tarımda verimin artırılması için pestisit çeşitleri çok sık kullanılmaktadır. Fakat kullanılan bu pestisit çeşitleri ekolojik döngüye her geçen gün zarar vermektedir. Bu durum göz önüne alınarak herbisit çeşidi olan tribenuron metilin; zebra balığı embriyo hücreleri üzerine olan etkilerinin incelenmesi amacıyla bu çalışmada teratolojik incelemeleri yapılmıştır.

1,8 mg/L, 0,9 mg/L, 0,4 mg/L, 0,2 mg/L ve 0,1 mg/L dozlarla yapılan bu çalışmada zebra balığı embriyo ve larvalarında morfolojik bozukluklar gözlenmiştir. Oluşan teratolojik etkiler 5 gün boyunca izlenmiştir.

Bu çalışma sonucunda tribenuron metil uygulamasının embriyo hücrelerinde toksik etki ettiği tespit edilmiştir.

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF TRIBENURON METHYL ON ZEBRAFISH (*Danio rerio*) DEVELOPMENT BY TERATOLOGICAL METHODS

SUMMARY

Keywords: Tribenuron Methyl, Zebrafish (*Danio rerio*), Embryo, Teratology

In recent years, the use of pesticides and varieties has increased in agriculture. Pesticide varieties are frequently used to increase the yield in agriculture. However, these pesticide varieties used harm the ecological cycle every day. Taking this into consideration, the herbicide type is tribenuron methyl; To investigate the effects of zebrafish on embryo cells, teratological studies were performed in this study.

In this study with 1,8 mg/L, 0,9 mg/L, 0,4 mg/L, 0,2 mg/L ve 0,1 mg/L doses, morphological disorders were observed in zebrafish embryos and larvae. The teratological effects were monitored for 5 days.

As a result of this study, tribenuron methyl application was found to be toxic in embryo cells.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Şeffaf embriyo özelliğine sahip olan; Zebra balığı (*Danio rerio*) 1930'lardan beri yaygın olarak üzerine çalışılan model bir organizmadır. Zebra balığı, birçok ilaç veya hastalık tedavi ve tespit çalışmalarında tercih edilen bir model organizmadır. Çeşitli canlı türlerinde embriyo ile ilgili çalışmalarla karşılaştırılmasına rağmen bu hücrelerin teratolojik açıdan inceleyen çalışmalar yetersizdir. Balığın embriyo döneminde dış madde veya zarara karşı kendisini engellemesine rağmen yapısal ve işlevsel değişiklikler ne olacağı merak konusu olmuştur.

Pestisitler tarımda zararlı organizmaları engellemek veya kontrol altına almak için kullanılan madde ya da madde karışımlarıdır. Engellenmek istenen canlı durumuna göre pestisit çeşitleri değişmektedir. Tribenuron metil bir herbisit çeşididir. Belirli bir bitki türüne karşı daha seçici olan doğal ortamlarda birikim göstermeme özelliğine sahip yeni formüle edilmiş pestisitler sürekli üretilmekte ve piyasaya sürülmektedir. Bu yeni özelliklere sahip olan pestisitler sulfonil üre türevleri (amidosulfonon, azimsulfonon, nikosulfonon, rimsulfonon, tifensilsulfonon metil, tribenuron metil) ve azoksistrobindir. Sulfonil üre herbisitleri; asma, pirinç, turunçgiller, mısır, patates ve domates gibi ürünlerin korunması amacıyla birçok çimen ve geniş yapraklı yabancı otun kontrolünde yaygın olarak kullanılmaktadır. Tribenuron metil, düşük konsantrasyonlarda bile büyük fitotoksik etkiye sahip olan sulfonil üre grubu herbisitlerdir. Diğer sulfonil üre bileşikleriyle karşılaştırıldığında, tribenuron metil'in belirlenmesi ile ilgili çok az çalışma yapılmıştır. Tarımda fazla tercih edildiği için insanlar da dahil olmak üzere pek çok canlı grubu bu maddeye maruz kalmaktadır. Tribenuron metilin endokrin bozucu potansiyeli olduğundan embriyoları yakından etkilemektedir. Dolayısıyla çalışma boyunca zebra balığı embriyolarında düşük dozlarda tribenuron metil uygulanarak, bu maddenin balığın dışarıya en hassas olduğu dönem olan embriyo döneminde etkileri teratolojik yöntemlerle incelenmiştir.

Yapılan bu çalışmada zebra balığı embriyo ve larvalarında (ilk 5 günlük süreç) meydana gelen değişiklikler ışık mikroskobu ile incelenmiştir. Tribenuron metilin belirlenmiş olan öldürücü yani LC_{50} dozu göz önüne alınarak istatistik hesaplamalar sonucu doz seviyeleri belirlendi. Embriyolojik yöntem yani Zebra balığının embriyoları belirlenen doz seviyeleri oluşturularak 5 gün boyunca çözelti içerisinde bekletildi. 5 günlük süreçte ayrı ayrı bulunan doz gruplarının çözeltileri aynı dozla her gün yenilendi. 5 gün boyunca dozun uygulandığı saatte ışık mikroskobu altında gözlem yapıldı ve bulgular not edildi.

BÖLÜM 2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pestisitler

Pestisitler, Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından; “insan veya hayvanlarda oluşabilecek hastalıkları taşıyıcı; gıdaların, tarımsal ürünlerin, ahşap ve ahşap ürünlerinin veya hayvan yemlerinin üretimi, işlenmesi, taşınması, depolanması ve/veya pazarlanması sırasında bu uygulamaları olumsuz etkileyecek her türlü zararlının önlenmesi, yok edilmesi veya kontrol altına alınması amacıyla veya hayvanlar üzerinde veya vücutlarında bulunabilecek zararlıların kontrol altına alınması amacıyla kullanılan maddelerdir.” olarak tanımlanmıştır (FAO, 2002). Pestisit deyimi, algisit (alg öldürücü), avisit (kuş öldürücü), bakterisit (bakteri öldürücü), fungusit (mantar öldürücü), herbisit (yabancı ot öldürücü), insektisit (böcek öldürücü; ovisit (yumurta öldürücü), larvisit (larva öldürücü), adultisit (erişkin öldürücü), akarisit (akar öldürücü), molluskisit (sümüklüböcek ve salyangoz öldürücü), nematisit (nematod öldürücü), rodentisit (kemirgen öldürücü) ve virüsit (virüs öldürücü) şeklinde sıralanabilecek kimyasalların tümünü kapsamaktadır (EPA, 2009). Pestisitler hedef canlıların haricinde çevreye taşınarak ekosistemlere geçebilmektedir. Uzun süre çevrede kalabilen pestisitler teratojen ve daha önemlisi kanserojen olabilmektedir. Pestisite maruz kalan balıklar üzerine yapılan çalışma bu durumu desteklemiştir. Tatlısu çipurasında (*Oreochromis niloticus*) ve sazanlarla (*Cyprinus carpio*) yapılan bir çalışmada her iki balık türüne 96 saat boyunca 2,4-D ve azinphosmethyl pestisiti uygulanarak farklı dokulardaki enzim aktiviteleri araştırılmış ve deneme süresi sonunda her iki balık türünde enzim aktivitelerinde artış gözlemlenmiştir. Özellikle sazanların solungaçlarında SOD aktivitesinin, böbrek dokularında ise katalaz enzimlerinin artış gösterdikleri görülmüştür. Tatlısu çipurasında ise beyin dokularında katalaz aktivitesinin değişmediğini fakat sayısında artış olduğunu kaydedilmiştir (Oruç ve ark. 2004).

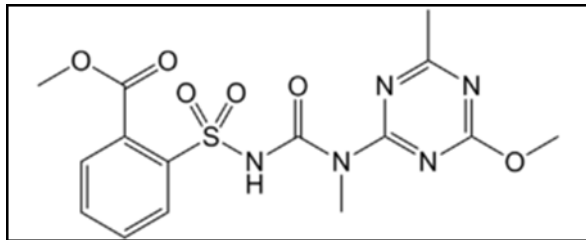
2.1.1. Herbisitler

Kültürü yapılan bitkilerin kullandığı ışığa, besin maddelerine, suya ortak olan, 15 üretim ve kalitenin düşmesine sebep olan bitkiler "yabancı ot", bu otların öldürülmesi veya gelişmesinin sınırlandırılması için kullanılan kimyasal maddeler "herbisit" olarak adlandırılırlar. Herbisitlerin içindeki etkinlik gösteren kimyasal maddeler "aktif madde" olarak nitelendirilmekte ve ticari preparatlarda "dolgu maddesi" ile karışık halde bulunmaktadır. İçerdikleri aktif maddelerin formülasyonuna bakılarak herbisitinin etkinliği hakkında bir fikir edinmek mümkündür (Ahrens, 1974). Herbisitin balık üzerine etkisi araştırılan çalışmaya göre; Nil tilapiyası (*O. niloticus*) balığı ile yaptıkları çalışmalarında, farklı sıcaklıklarda (17 °C ve 27°C) tek doz (0,5 mg L-1) uyguladıkları paraquatın (PQ) antioksidan enzimler üzerindeki etkisine bakmışlar ve adı geçen herbisitinin SOD, GST ve GR aktivitelerinde artışa sebep olduğunu kaydedilmiştir (Figueiredo-Fernandes vd. (2006).

2.2. Tribenuron Metil

2.2.1. Bilimsel, teknik ve ticari adı

Tribenuron-metil herbisit bir maddedir. Kimyasal ismi(IUPAC) ise Metil-2 - {[4-metoksi-6-metil-1,3,5-triazin-2-il) metilaminokarbonil] sülfamoil} benzoat kullanılır.



Şekil 2.1. Tribenuron metilin yapısal formülü

Tribenuron metil tarımda birçok ilacın etkin maddesi olarak kullanılmaktadır. Bu ilaçlar; Agstar, Antes 75 DF, Beatstar, Bolero, Calamity, Clunary 75 DF, Duostar 75

DF, Facheta, Ferstar, Flaystar 75 DF, Gadget, Glinstar, Grandslam, Granland, Granweed, Gremystar, Gromstor olarak belirtilebilir.

2.2.2. Tribenuron metilin fiziksel, kimyasal ve toksikolojik özellikleri

Kararsız formdadırlar. Kahverenginde katı bir yapı gösterirler. Erime noktaları 141°C'dir. Rölatif yoğunlukları 1.5dir ve suda çok iyi çözünürler. Kimyasal adı: metil 2- n-(4- metoksi- 6- Metil- 1,3,5- triazin- 2-il) karbonil metilamino Amino karbonil Amino sülfonilbenzoatdır. Sucul ortamda uzun süre kalıcı ve çok toksik etkisi vardır.

2.2.3. Tribenuron metilin başlıca kullanım alanları

Tribenuron metil, tarım ilaçlarında, tarımda yabancı otlara karşı üretilen bazı tarım ilaçlarının ana etken maddesi olarak farklı konsantrasyonlarda kullanılan bir pestisit çeşididir. Bu etken madde ile geliştirilen formüller, buğday ve arpada geniş yapraklı yabancı otlar (Arap baklası, ballıbaba, düğün çiçeği, gelincik, gönül hardalı, kokarot, köygöçüren, sarı ot, sedef otu, sinek kapan, yabancı cam çiçeği, yabancı çivit otu, yabancı fiğ, yabancı turp, yabancı hardal, yapışkan otu, gökbaş) gibi yabancı otların mücadelesinde kullanılır. Tribenuron metil; kökler ve yeşil aksam yoluyla yabancı otlar tarafından bünyelerine alınır. Topraktaki kalıcı etkisi azdır (EPA,2009).

2.3. Zebra Balığının Genel Özellikleri

2.3.1. Zebra balığının sistematigi

Filum: Chordata

Subfilum: Vertebrata

Clasis: Osteichthyes

Subclasis: Actiopterygii

Superordo: Teleostei

Ordo: Cypriniformes

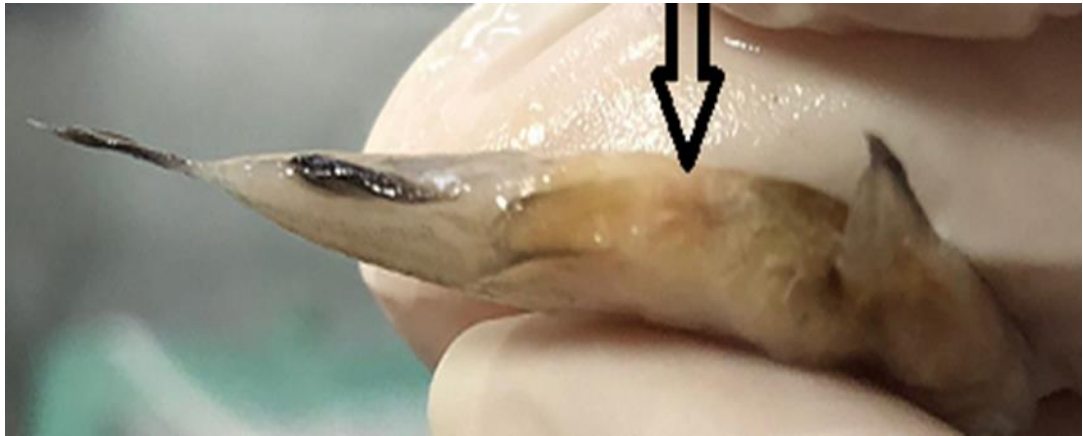
Familya: Cyprinidae

Genus: Danio

Spesies: *Danio rerio*

2.3.2. Zebra balığının biyolojisi ve morfolojisi

Üzerinde zebra çizgilerine benzer hatlar olduğu için bu canlılara zebra balığı denmektedir. Cyprinadae familyasının bir üyesi olup doğal olarak Bengal'deki akarsulardan Hindistan'ın Coromendel sahillerine kadar bulunur. Hareketli bir balıktır (Berlil ve ark.,1976). Diğer balıklarla beraber uyumlu bir şekilde sürü halinde yaşarlar. Boyları dişilerde 5 cm'ye kadar ulaşabilir, erkekler ise dişilerden daha ufaktır. Erkeklerde karın düz olduğundan, dişiye oranla daha ince görünürler. Vücut temel olarak gümüş rengindedir. Vücutta boydan boya 7-9 tane mavi çizgi bulunur. Bu çizgiler kuyrukta da devam eder. Erginleşmemiş erkek ve dişilerin ayırt edilmesi belirsiz eşey karakterlerinden dolayı çok zordur. Ama erginleşmiş erkeklerin dişiye nazaran daha büyük anal yüzgece sahip olmaları ve dişilerde genital papillanın daha belirgin oluşu bu ayırımı yapılmasına olanak sağlamaktadır. Ayrıca dişilerde karın oldukça şişkin ve tombuldur (Battle ve ark.,1958).



Şekil 2.2. Erkek zebra balığında genital papilla



Şekil 2.3. Dişi zebra balığında genital papilla

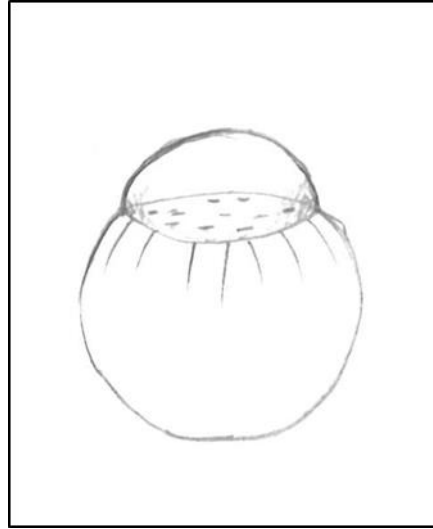
2.4. Zebra Balığı Gelişim Aşamaları

Zebra balığında embriyo gelişimi; zigot, segmentasyon (yarıklanma), blastula, gastrula, faringula (geçiş evresi) ile kuluçka ve larval evreler olmak üzere 7 evredir (Kimmel ve ark., 1995).

2.4.1. Zigot evresi

Döllenmiş yumurta döllenmeyi takip eden 2 saatlik süre içerisinde, yumurta zarı ile yumurta sarısı arasında perivitellin boşluğun oluştuğu ve belirgin şekilde görülen evredir.

Zebra balığı yumurtası döllendikten sonra 45-46. dakikaya kadar olan yani ilk bölünmeyi geçirene kadar bulunduğu evre zigot evresidir. Zigot evresinde koryon şişer ve yumurtadan ayrılır. Fertilizasyon ile sitoplazmik hareketler başlar (Kimmel ve ark., 1995).

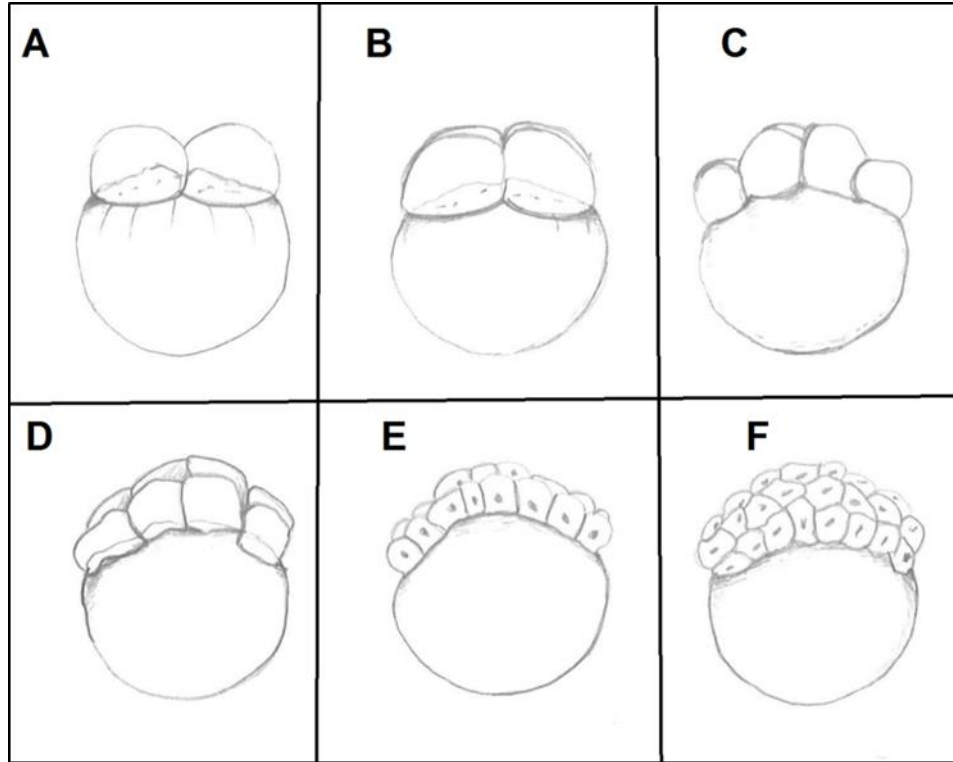


Şekil 2.4. Zebra balığının döllenmiş yumurtası (Kimmel ve ark., 1995).

2.4.2. Segmentasyon (yarıklanma) evresi

Zigotun sitoplazma büyümesi olmadan art arda mitoz bölünme geçirmesi sonucu birbirine benzer hücrelerin oluşmasına “segmentasyon” denir. Zebra balığında meroblastik segmentasyonun diskodial tipi görülmektedir. Bölünmeler ile oluşan 2-32 hücreli embriyo yapısındaki her hücreye “blastomer” denir. Buna göre 25 dakikada bir bölünme ile 2.5 saat sonunda yumurtaların mitoz ile bir seri bölünme geçirdikleri ve vitellüsteki artış nedeniyle perivitellin boşluğa doğru bir taşmanın olduğu görülmüştür.

İlk bölünme fertilizasyondan yaklaşık 40 – 45 dk sonra gerçekleşir. Bölünen blastodiske “blastoderm” denir. Blastodermiler bölünerek morula safhasına ulaşır (Kimmel ve ark., 1995).



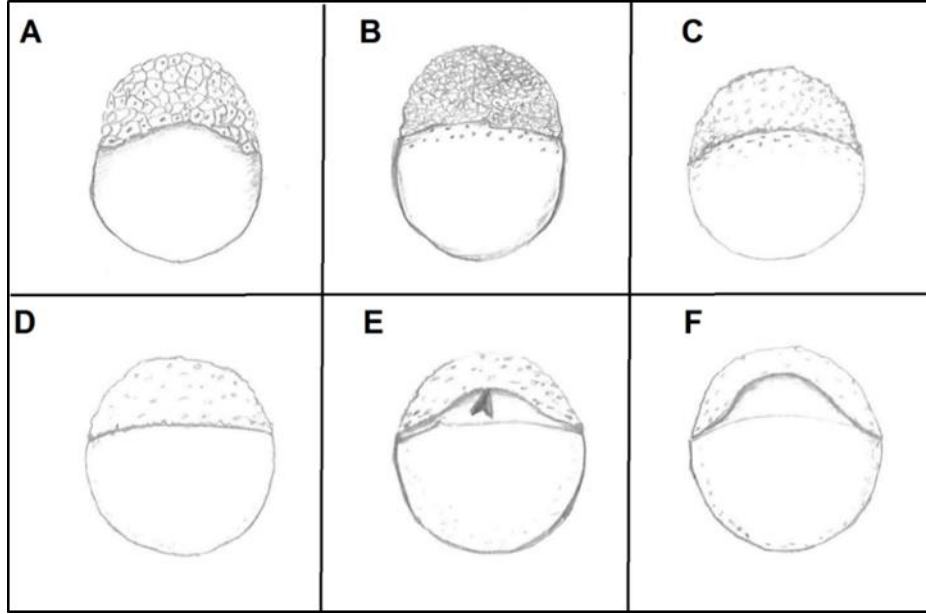
Şekil 2.5. Zebra balığı embriyosunda segmentasyon ve morula evreleri A) 2 blastomerli safha (0,75saat) B) 4 blastomerli safha (1 saat) C) 8 blastomerli safha (1,25 saat) D) 16 blastomerli safha (1,5 saat) E) 32 blastomerli safha (1,75 saat) F) 64 blastomerli safha (morula evresi) (2saat) (Kimmel ve ark., 1995).

2.4.3. Morula ve blastula evresi

Bu evrede embriyo bir üzüm salkımına benzeyen karakteristik bir görünüm kazanır. Embriyonun bu evresine morula denir. 7. saatte vitellüs üzerinde kürecik şeklinde çok fazla hücreden oluşmuş tümsek şeklinde bir kısım gözlenmiştir.

Blastula dönemindeki (7.5 saat) döllenmiş yumurtada vitellüs üzerinde blastoderm adı verilen disk şekilli kep benzeri periblast adı verilen bir tabakanın oluşturduğu görülmüştür.

Blastula, blastodiskin top gibi küre halinde gözüktüğü aşamada embriyoya verilen isimdir. Bu aşama, embriyonun 128 blastomerli aşamasıdır. Zebra balığında diskoblastula adı verilen blastula çeşidi görülmektedir. Bu evre gastrula başlangıcına kadar devam eder. Bu aşamada epiboli başlar (Kimmel ve ark., 1995).



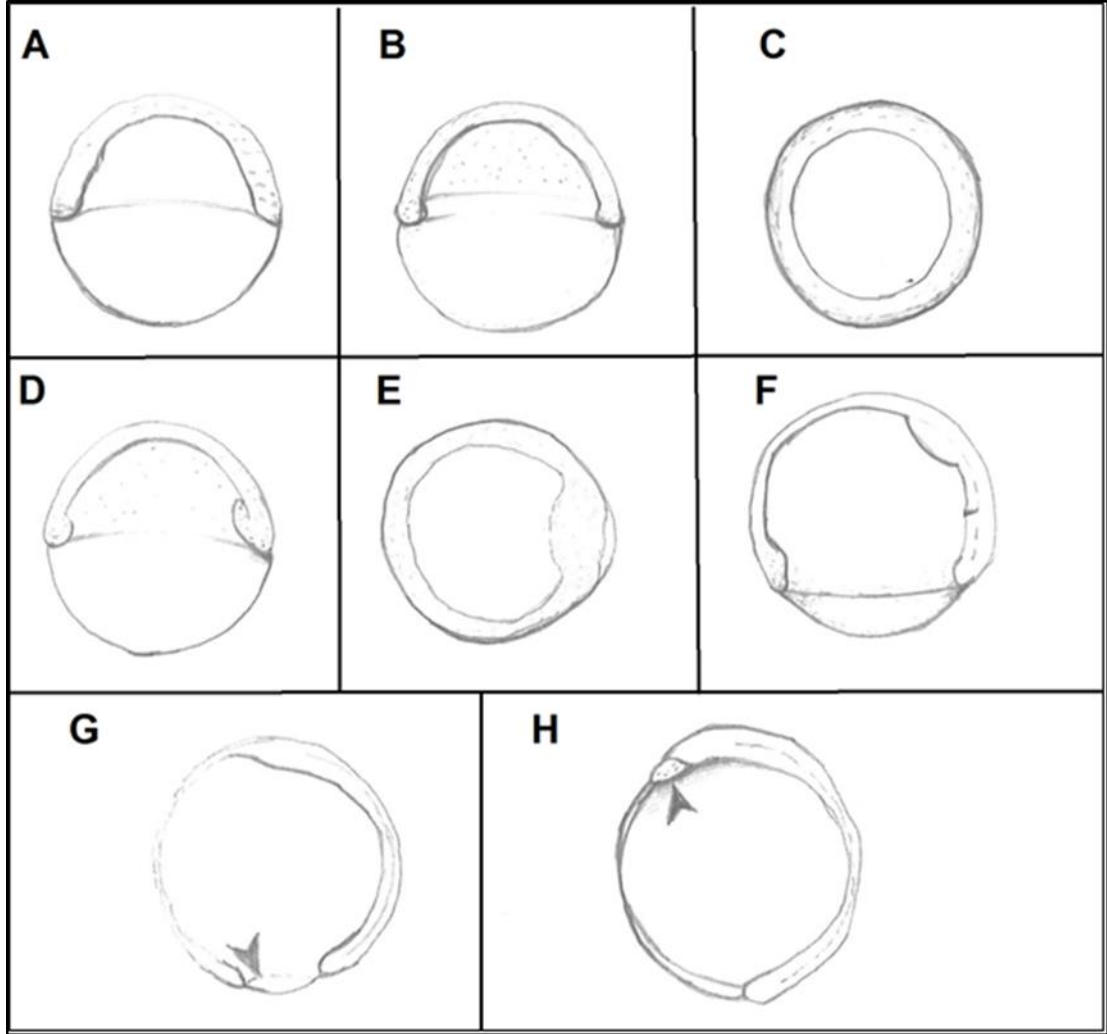
Şekil 2.6. Zebra balığında morula blastula evreleri a) 256 blastomerli evre (2,5 saat), b) tümsek evresi (3,3 saat), c) tümsek ve çevreleme evreleri arasında geçiş (3,5 saat), d) çevreleme ve küresel evreler arasında geçiş (3,8 saat), e) kubbe evresi ok yönünde (4,3 saat), ektodermin girinti (ok yönü), f) %30 epiboli (4,7 saat) (Kimmel ve ark., 1995).

2.4.4. Gastrula evresi

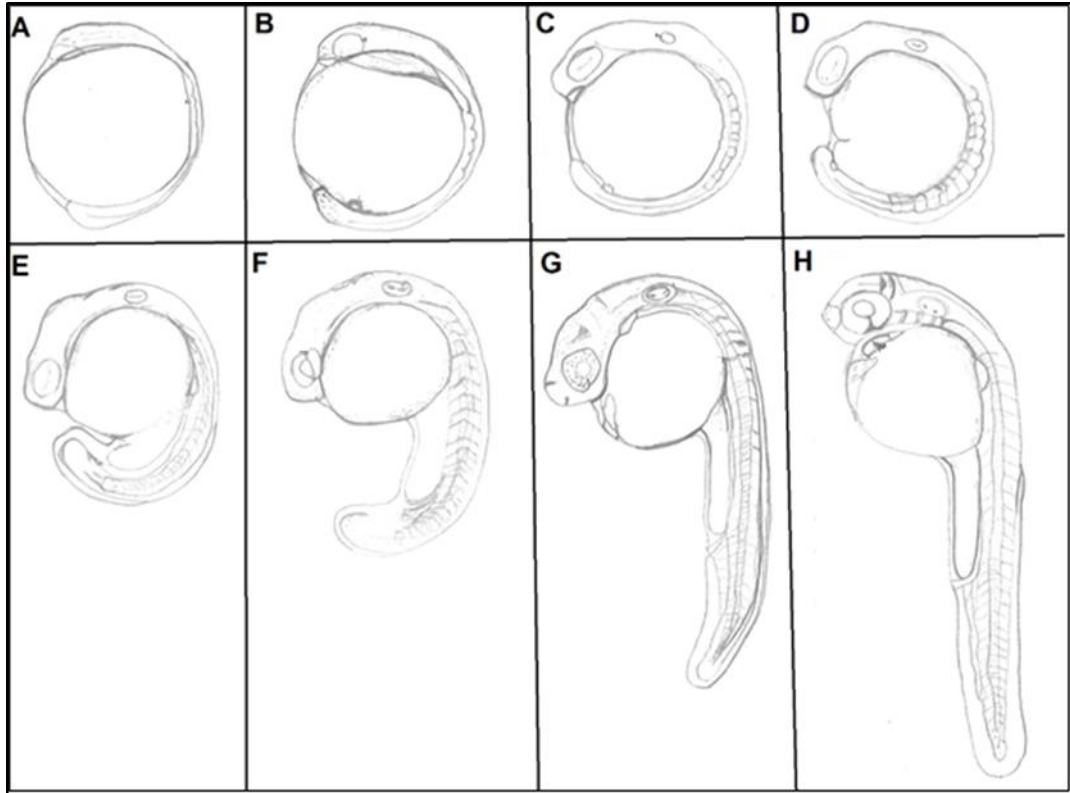
Dış tabakadaki ektoderm hücrelerinin blastosol boşluğuna doğru göç etmesine “gastrula” denir. Yumurtalarda döllenmeyi takip eden 19. saat sonunda gastrula safhasının devam ettiği ve vitellüsün ampul şeklini aldığı saptanmıştır. Vitellüs üzerinde germ halkası ve embriyonik kalkan gözlenmiştir. Buna göre Zebra balığında involüsyon tipi gastrula görülmektedir.

21. saatte vitellüs üzerinde embriyonun belirgin hale geldiği ve göz vesiküllerinin oluştuğu saptanmıştır. Göz vesikülleri oldukça büyüktür.

Döllenmeden sonra 5. ve 24. saatler arasında gerçekleşen gastrula evresinde epiboli devam eder. İnvölüsyon, gastrulasyonun başlangıcı olarak kabul edilir. Gastrulasyonda gerçekleşen en önemli olaylar kuyruk tomurcuğu ve germ halkasının oluşmasıdır. Gastrulasyonda baş bölgesi belirginleşir ve vitellüs küçülmeye başlar (Kimmel ve ark., 1995).



Şekil 2.7. Zebra balığı embriyosunda gastrulasyon A) %50 epiboli (5,25. saat) B) Germ halka evresi (5,7. saat) C) Germ halka evresinin animal kutuptan görünümü D) Kalkan evresi (6. saat) E) Kalkan evresinin animal kutuptan görünümü F) %75 epiboli (8. saat), G) %90 epiboli (9. saat) Bu evrede ok yönünde kuyruk tomurcuğu gözlemlenmeye başlar. H) Tomurcuk evresi ok yönünde (10. saat) (Kimmel ve ark., 1995).



Şekil 2.8. Zebra balığında somitlerin oluşumu A) 3 somitli safha (11. saat) B) 6 somitli safha (12.saat) C) 10 somitli safha (14. saat) D) 14 somitli safha (16. saat) E) 18 somitli safha (18. saat) F)21 somitli safha (19,5. saat) G) prim-6 safha (25. saat) H) prim-16 safha (31. saat) (Kimmel ve ark., 1995).

2.4.5. Faringula evresi

Döllenmeyi takip eden 26. saatte kuyruk somitlerinin ve pigmentasyonun oluşmaya başladığı görülmüştür. Kalpte belirgin bir atış ve dolaşım sistemi oluşumu saptanır. Bu evrede yüzgeçler şekillenmeye başlar, pigment hücreleri farklılaşır, beyin taslağı oluşur (Kimmel ve ark., 1995).

2.4.6. Kuluçka evresi

Zebra balığında kuluçka evresi 48. saatten itibaren başlar. 70. saatte embriyonun yumurtayı tamamıyla doldurduğu, pigmentasyonun yoğun bir şekilde oluştuğu ve kan dolaşımının gerçekleştiği görülmüştür. Bu evrede embriyonun hareketleri çok belirgindir. Gelişimini tamamlayan embriyoda vitellus kesesi küçülür (Kimmel ve ark., 1995).

2.4.7. Larval evre

Larvanın yumurtadan çıkışı 73. saatte gerçekleşmiştir. Yumurtadan çıkan keseli larvaların şeffaf olduğu görülmüş ve yüzgeçlerin oluştuğu saptanmıştır. Bu dönemde ölçümü yapılan larvaların boy ortalaması 4.3-4.4 mm dir (Kimmel ve ark., 1995).



Şekil 2.9. Zebra balığı larvası

2.4.8. Genç (juvenil) evre

Larva ile ergin balık arasındaki geçiş dönemidir. Yumurtadan çıkan larvalarda 76. saatte vitellüs çekilmeye başlamış ve kuyruk yüzgeci belirgin hale gelmiştir. Bu dönemdeki larvalarda boy ortalaması 4.5-4.6 mm dir (Kimmel ve ark., 1995).

Larvanın gelişimini takip eden 81. saatte vitellüs çekilmiş, hava kesesi oluşmuştur. Ağız açıklığı henüz görülmemiştir.

Yumurtadan çıkışın 82. saatinde iç organların ve yüzgeç oluşumlarının belirgin olduğu, ağız açıklığının oluşmaya başladığı saptanmıştır. Larva henüz serbest yüzer

hale geçmemiştir. Bu dönemdeki larvalarda boy ortalaması 7.1-7.7 mm dir (Kimmel ve ark., 1995).

2.4.9. Ergin evre

Zebra balığı gelişiminin 3. ayında ergin döneme ulaşır.



Şekil 2.10. A: Erkek zebra balığı, B: Dişi zebra balığı

BÖLÜM 3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Zebra balığı (*Danio rerio*)

Zebra balıkları, dayanıklı bir tür olmalarının yanı sıra kolay bulunabilmesi, laboratuvar ortamında kolay beslenmesi ve çoğalması, yüksek fekondite göstermesi, dış döllenmeyle üremesi, yumurta ve embriyolarının saydam oluşu, yumurta ve larva gelişiminin kolay izlenebilmesi, gelişme zamanının kısa olması ve toksik ajanlara embriyolarının duyarlı oluşu bakımından toksikoloji çalışmalarında oldukça sık kullanılan bir model organizma olmuştur. Birçok insan hastalık ve gelişim genlerinin benzeri zebra balığının genomunda vardır. Üretilen mutant zebra balıkları insan hastalıkları için uygun bir modeldir. İlaçların denenmesi için de kullanılır. Alzheimer hastalığı, konjenital kalp hastalığı, polisistik böbrek hastalığı ve kanser gibi hastalıkların araştırılmasında zebra balığı modeli olarak kullanılabilir.

3.1.2. Tribenuron metil

Tribenuron metil Dupont firmasından temin edilmiştir. 101200 – 48 – 0 CAS numaralı olup tarım ilacı olarak herbisit amaçlı üretilmiştir.

3.2. Metod

3.2.1. Deney düzeneğinin oluşturulması

Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Araştırma Laboratuvarı içerisine zebra balığı ile yapılacak deneyler için akvaryum sistemi

kuruldu. Akvaryumların içerisine dinlendirilmiş musluk suyu konulup sıcaklık termostatlı bir ısıtıcı ile 28 °C olacak şekilde ayarlandı. Akvaryum içerisindeki sular hava motorları ile oksijenlendirildi. Oda içerisine 14 saat aydınlık 10 saat karanlık olacak şekilde aydınlatma sistemi kurularak balıkların gelişim süreci için gerekli olan fotoperiyot oluşturuldu. Bu ortam koşullarında 7 gün boyunca adaptasyona tabi tutuldu ve balıklar düzenli olarak yemlendi. Yumurta toplamak için, yumurta toplanması amaçlanan günden 1 hafta önce, balıklar hafta boyunca canlı yemlerle (dondurulmuş karides ve solucan gibi) beslendi. Sonra 2 dişiye 5 erkek gelecek şekilde 24x28x40 cm ebadında çiftleştirme akvaryumlarına yerleştirildi. Daha önceden fotoperiyoda alışkın olan balıklar, yumurta toplanacak günden bir gün önce, bu akvaryumlara alındı ve ertesi sabah döllenmiş yumurtalar gözlemlendi. Akvaryum tabanından toplanan embriyolar stereomikroskop altında incelendi. Normal gelişim gösteren embriyolar denemelere başlayınca kadar 28 °C lık dinlenmiş su bulunan petrilere etüv içerisinde bekletildi.

3.2.2. Embriyo ve larval toksisite testi

Bu araştırmada, tribenuron metilin toksisitesini belirlemek amacıyla, teratojenite testi (EPA) kullanıldı. Bu teste göre, toksisitesinden şüphelenilen kimyasal madde, LC₅₀ dozunu belirlemek için zebra balıkları, kontrol ve deney gruplarında her petride 20 embriyo olacak şekilde düzenlendi. Deney grubuna ait zebra balığı embriyolarına blastula evresinde 1gr/l, 100mg/l, 10mg/l, 1 mg/l, 0,1mg/l, 0,01 mg/l'lık dozlarda tribenuron metil uygulanması yapıldı ve embriyoların gelişimleri 120 saat süre zarfında gözlemlendi. Yaşayan ve ölü embriyo sayıları not edildi. Tüm deney aşamaları 4 tekrarlı olacak şekilde yapıldı. Probit yöntemi ile LC₅₀ dozu 1,850 mg/L olarak hesaplandı. Uygulama dozları olarak 1,812 mg/l, 0,906 mg/l, 0,453 mg/l, 0,226 mg/l, 0,113 mg/l, 0,056 mg/l olarak belirlenip; 120 saatlik uygulama sonucunda çeşitli anormallikler not edildi.

3.2.3. İstatistiksel analiz

IBM SPSS 23 programı ile kontrol grupları ile uygulama doz grupları arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklar hesaplanmıştır. Hesaplama için ANOVA testi kullanılmıştır. Doz grupları arasındaki farklar için TUKEY HSD testi kullanılmıştır. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı fark kabul edilmiştir.

3.2.4. Embriyo ve larvalara tribenuron metilin uygulanması

Tribenuron metilin uygulaması zigotlara ilk 0-2 saatlik zaman diliminde uygulandı. Kontrol grubunda sadece su kullanılırken, deney gruplarına LC50 değeri göz önünde bulundurularak 1,812 mg/l, 0,906 mg/l, 0,453 mg/l, 0,226 mg/l, 0,113 mg/l, 0,056 mg/l'lik konsantrasyonlarda tribenuron metil uygulaması yapıldı. Kontrol ve deney gruplarında 20'şer adet embriyolar, 20 ml solüsyonun içerisinde tutuldu. Embriyolar, 14 saat aydınlık:10 saat karanlık fotoperiyot uygulanan bir ortamda 28 °C'ye ayarlı inkübatörde yaşatıldı. Gözlemler 24, 48, 72, 96 ve 120 saat aralıklarla yapıldı ve her 24 saatte bir petri içlerindeki solüsyonlar yenilendi. Deney gruplarında meydana gelen anomaliler not edilip dijital kamera destekli ışık mikroskopuyla gözlenip fotoğrafları çekildi. Elde edilen verilerin istatistiği yapılarak tribenuron metilin zebra balığı embriyolarında koryondan çıkma, ölüm ve anomali oranları tespit edildi.

BÖLÜM 4. BULGULAR

4.1. Zebra Balğında Gelişim Evreleri

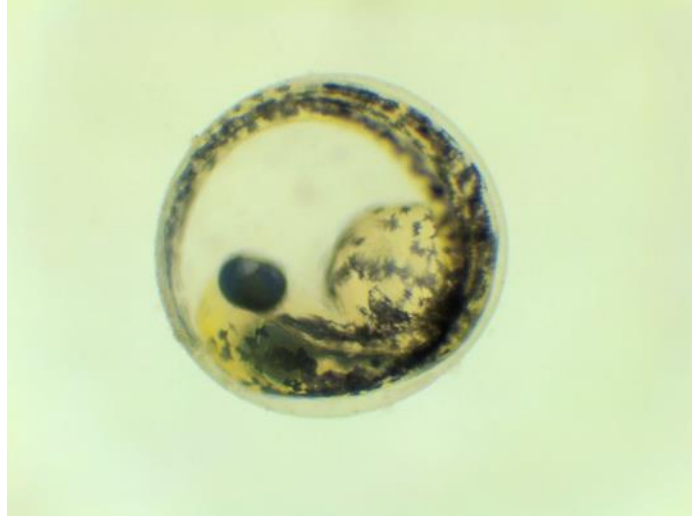
4.1.1. Kontrol grubu

Deney grubu dört kere tekrarlanmak üzere; toplam 80 adet embriyo incelendi. Embriyo gelişiminin 1. gününde somit oluşumunun tamamlandığı, baş ve kuyruk bölgelerinin oluştuğu-göründü (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Zebra balğı embriyosu 24 saatlik; b: baş bölgesi, k: kuyruk, v: vitellüs

Döllenmeden sonra 2. günde pigmentasyon oluşumu gözlemlendi. Embriyonun kalp atışları stereo mikroskop altında izlendi. Kalp atışı dakikada ortalama 103 kez olarak belirlendi (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. 2 günlük zebra balığı embriyosu

Gelişimin 3. gününde zebra balığı embriyolarının koryondan çıktığı gözlemlendi (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. 3 günlük zebra balığı embriyosunun koryondan çıkışı

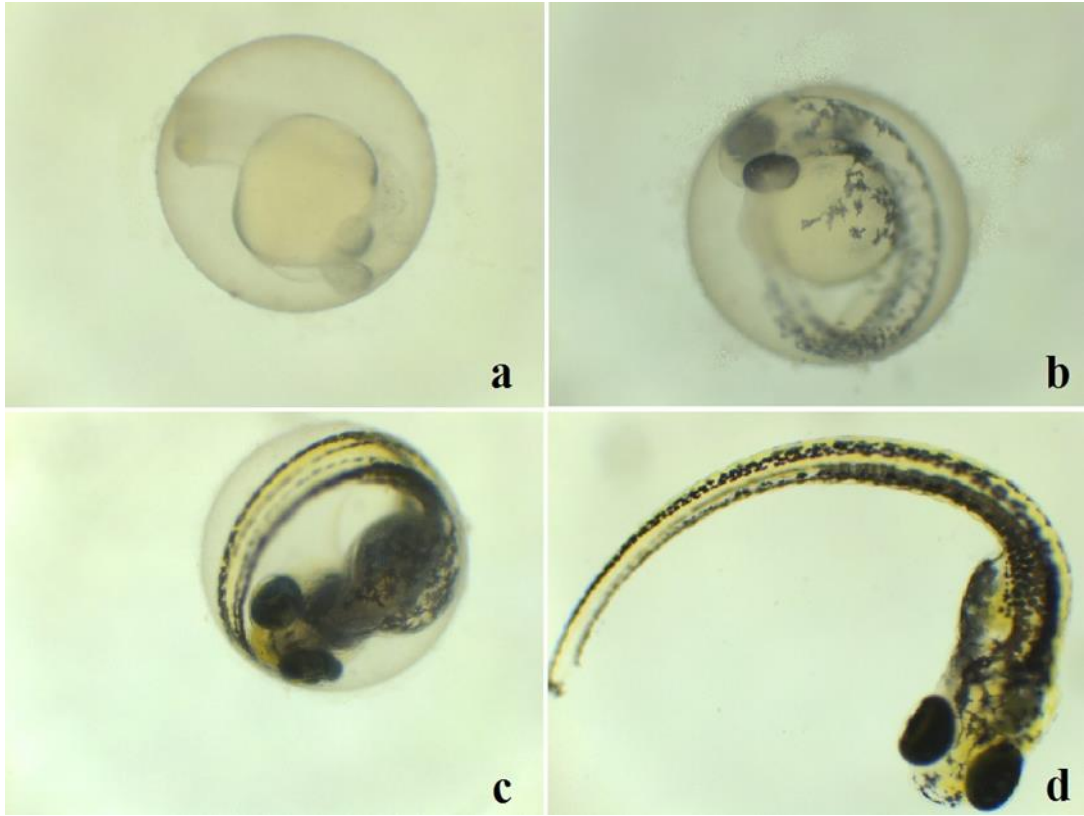
Gelişimin 4.gününden 7.gününe kadar serbest bir şekilde yüzen zebra balığı prelarvaları mikroskop altında incelendi (Şekil 4.4.). Zebra balığı larvaları 7. güne kadar vitellus kesesinden beslenirken, 7. gün itibari ile ağız yolu ile beslenmeye başladıkları görüldü.



Şekil 4.4. 4 günlük zebra balığı

4.1.2. 0,056 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış grup

Deney grubu dört kere tekrarlanmak üzere; 0,056 mg/L tribenuron metil uygulaması yapılmış zebra balığı embriyoları kontrol grupları ile karşılaştırıldığında toplam 80 embriyo içerisinde 1'i 1.gün öldü. Kalan 79 embriyodan 4 embriyoda anomali gözlemlendi. Gelişimin 1. gününde gelişim geriliği (Şekil 4.5.a), 2. gününde pigmentasyon oluşumunda gecikmeler görüldü (Şekil 4.5.b). 3.gününde ise koryondan çıkışlarda gecikmeler olduğu gözlemlendi (Şekil 4.5.c). Zebra balığı embriyolarından bazıları koryondan çıkışını 4.gün gerçekleştirdi (Şekil 4.5.d). Ayrıca anomali görülen 4 balıkta kalp atışı ilk üç günde ortalama dakikada 98 kez olarak hesaplandı.



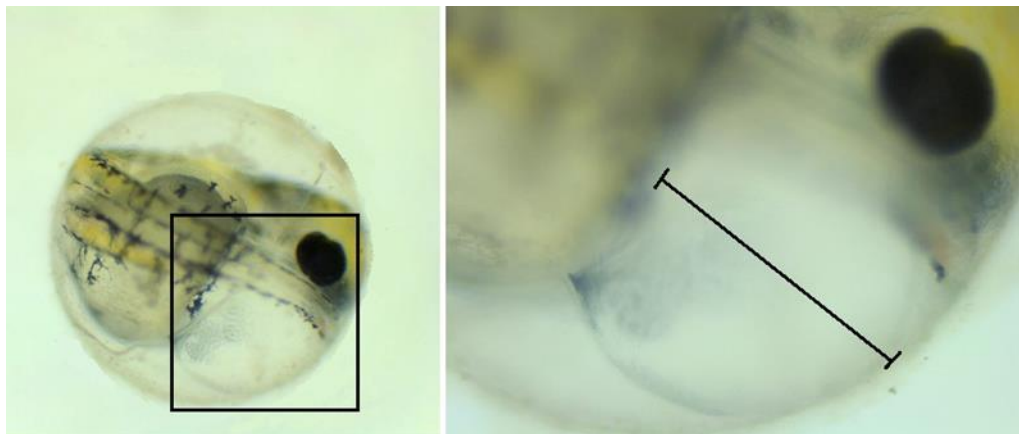
Şekil 4.5. 0,056 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış embriyo ve larvaları a) Gelişim geriliği, b) Yetersiz pigment oluşumu, c) Zebra balığı prelarvası 3.gün koryondan çıkışında gecikme, d) Zebra balığı prelarvası 4.gün koryondan çıkış

4.1.3. 0,113 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış grup

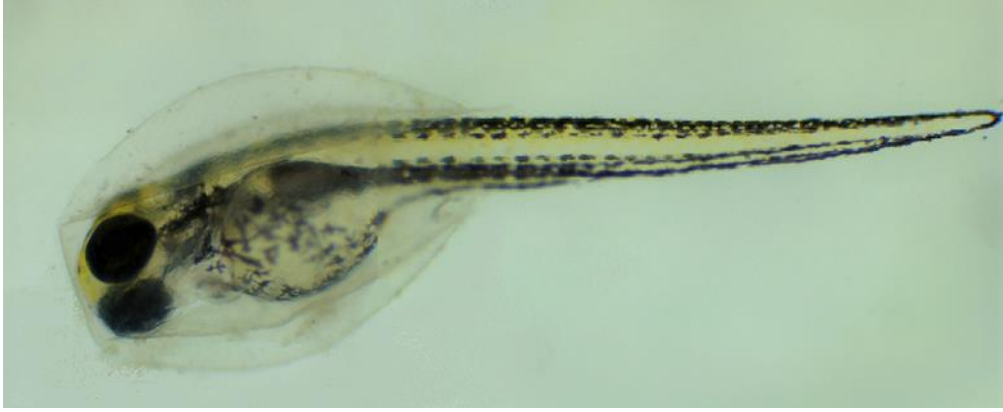
Deney grubu dört kere tekrarlanmak üzere; 0,113 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış zebra balığı embriyoları kontrol grupları ile karşılaştırıldığında toplam 80 embriyo içerisinde 3'ü 1.gün öldü. Kalan 77 embriyodan 7 embriyoda anomali gözlemlendi. Gelişimin 1. gününde gelişim geriliği ve perikardiyal ödem (Şekil 4.6.a), 2.gününde pigmentasyon oluşumunda gecikmeler ve perikardiyal ödemin büyümesi görüldü (Şekil 4.6.b). 3. gününde koryondan çıkışta gecikmeler olduğu ve perikardiyal ödemlerin 2. güne kıyasla daha büyüdüğü tespit edildi (Şekil 4.6.c ve Şekil 4.7.). 4.gününde hala koryondan çıkmayan embriyolar tespit edildi (Şekil 4.6. d). Bazı zebra balıkları koryondan çıkışını 5. gün gerçekleştirdi (Şekil 4.8.). Ayrıca anomali görülen 7 balıklara ilk 3 günde kalp atışı ortalama dakikada 96 kez olarak hesaplandı.



Şekil 4.6. 0,113 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış embriyo ve larvaları a) 1.gün Zebra balığı prelarvası gelişim geriliği, ödem oluşumu (okla gösterildi) b) 2.gün Zebra balığı prelarvası yetersiz pigment oluşumu ve perikardiyal ödem (okla gösterildi), c)3.gün Zebra balığı prelarvası koryondan çıkışında gecikme ve perikardiyal ödemde büyüme (okla gösterildi), d) 4.gün Zebra balığı prelarvası ve perikardiyal ödem (okla gösterildi).



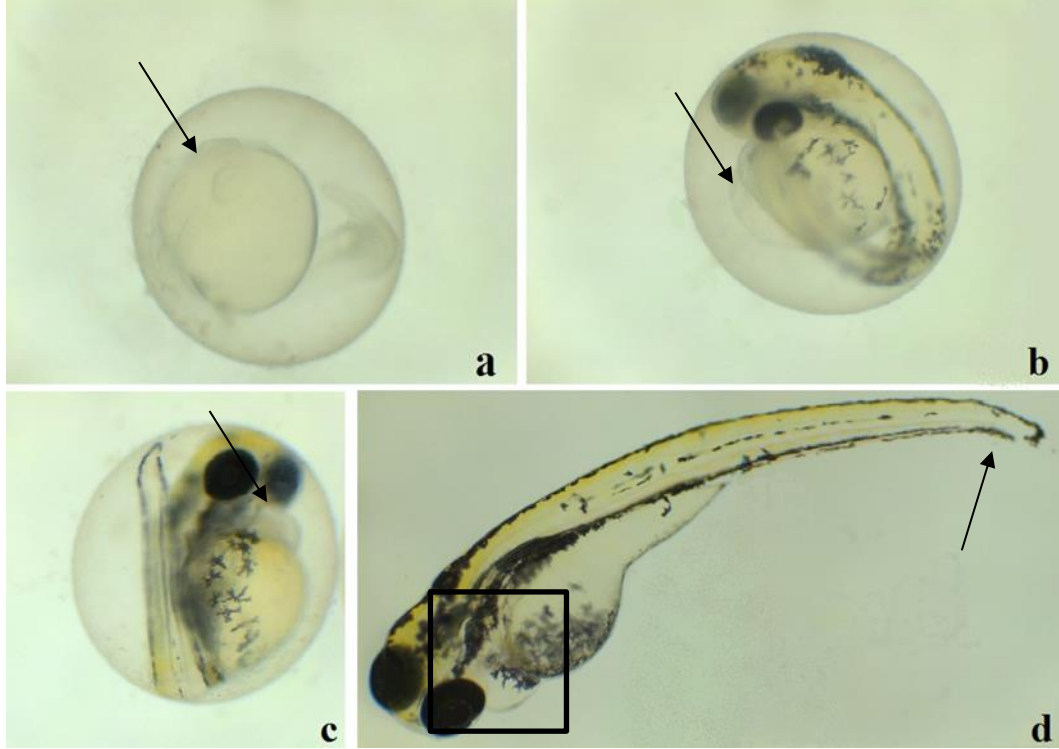
Şekil 4.7. 0,113 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış 4.gün Zebra balığı prelarvası perikardiyal ödemin genişliği (çizgiyle gösterildi).



Şekil 4.8. 0,113 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış 5.gün Zebra balığı prelarvası koryondan çıkışı

4.1.4. 0,226 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış grup

Deney grubu dört kere tekrarlanmak üzere; 0,226 mg/L Tribenuron Metil uygulaması yapılmış zebra balığı embriyoları kontrol grupları ile karşılaştırıldığında toplam 80 embriyo içerisinde 7'si 1.gün öldü. Kalan 73 embriyodan 14 embriyoda anomali gözlemlendi. Gelişimin 1. gününde belirgin olarak baş oluşmaması gibi gelişim geriliği (Şekil 4.9.a), 2. gününde pigmentasyon oluşumunda gecikmeler ve perikardiyal ödemin büyümesi görüldü (Şekil 4.9.b). 3.gününde koryondan çıkışlarında gecikmeler olduğu, pigmentasyon oluşumunun yavaşlığı ve perikardiyal ödem gözlemlendi (Şekil 4.9.c). 5.gününde koryondan çıkış gözlemlendi. Ancak koryondan çıkan balıkların bazılarının kuyruğunda eğrilik ve perikardiyal ödemler gözlemlendi (Şekil 4.9.d). Bununla birlikte bazı balıkların vitellüs kesesinde kısmen ödem, omurgada eğrilik ve perikardiyal ödem gözlemlendi (Şekil 4.10.). Ayrıca anomali görülen 14 balıkta ilk 3 günde kalp atışı ortalama dakikada 94 kez olarak hesaplandı.



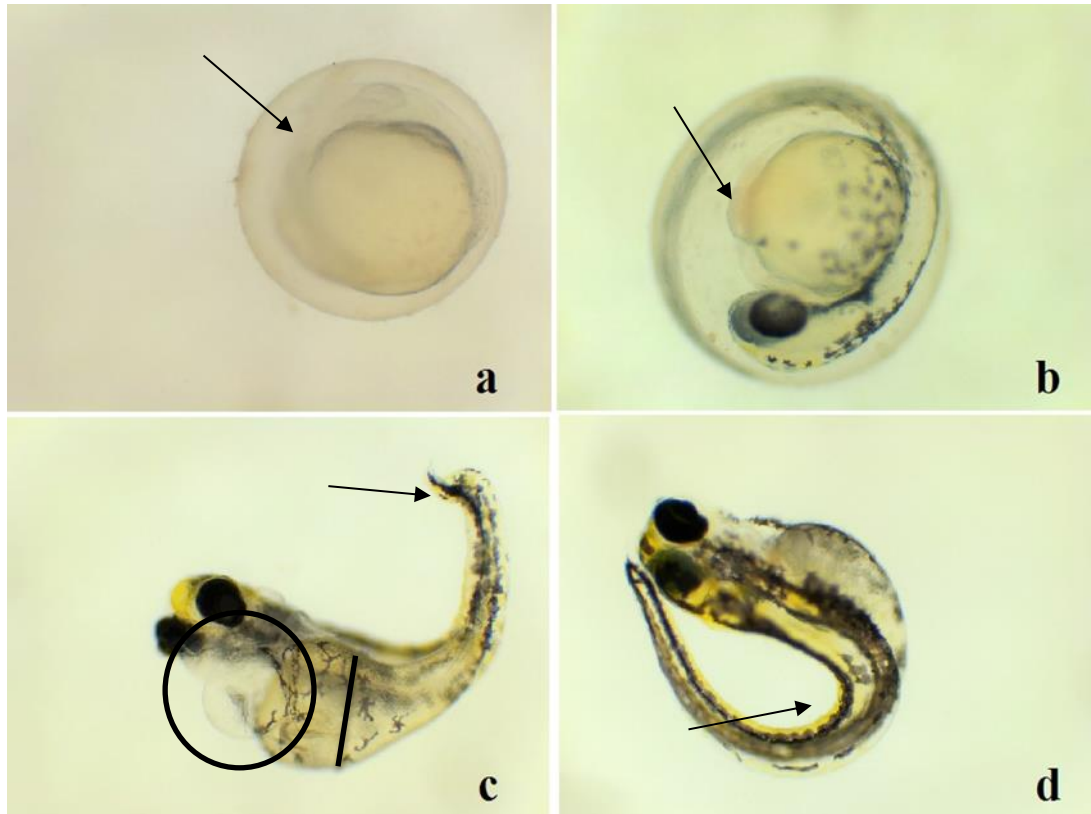
Şekil 4.9. 0,226 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış embriyo ve larvaları a) 1.gün Zebra balığı prelarvası gelişim geriliği, baş oluşumunun belirgin olmaması (okla gösterildi) b) 2.gün Zebra balığı prelarvası yetersiz pigment oluşumu ve perikardiyal ödem (okla gösterildi), c) 3.gün Zebra balığı prelarvası koryondan çıkışında gecikme ve perikardiyal ödemde büyüme (okla gösterildi), d) 5.gün Zebra balığı embriyosunda perikardiyal ödem (kare içerisinde gösterildi), kuyruğunda eğrilik(okla gösterildi).



Şekil 4.10. 0,226 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış 5.gün Zebra balığı embriyosunda perikardiyal ödem (daire içerisinde gösterildi), vitellüs kesesinde kısmen ödem (şişlik mesafesi çizgi ile gösterildi), omurgada eğrilik(okla gösterildi).

4.1.5. 0,453 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış grup

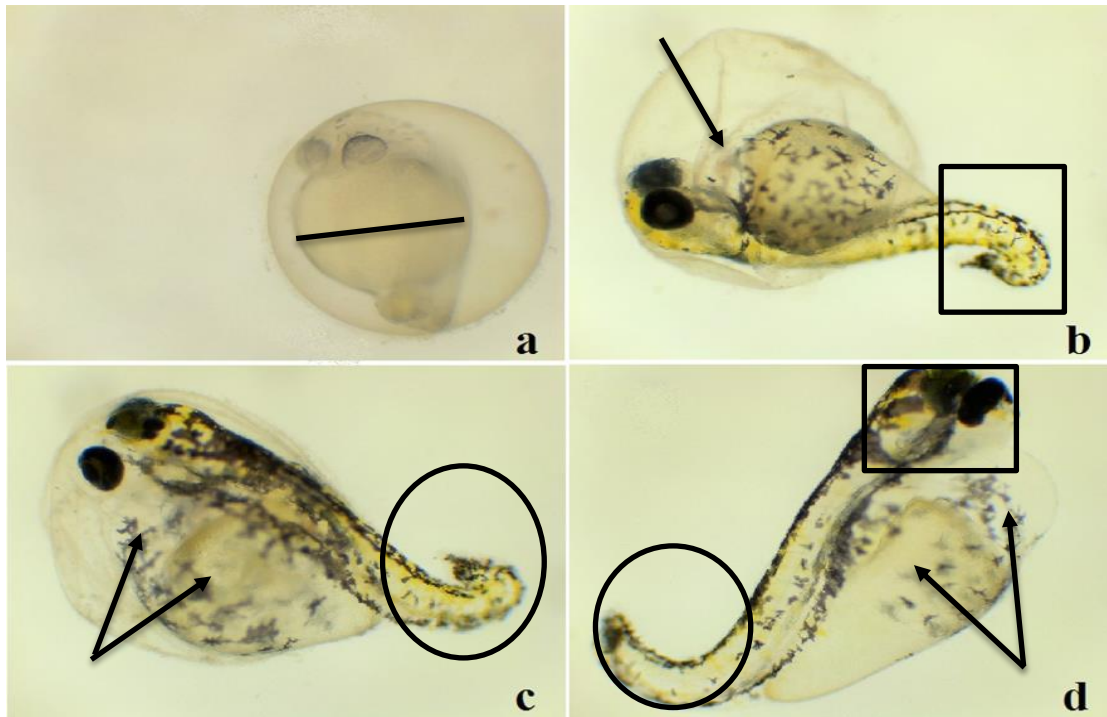
Deney grubu dört kere tekrarlanmak üzere; 0,453 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış zebra balığı embriyoları kontrol grupları ile karşılaştırıldığında toplam 80 embriyo içerisinde 13'ü 1.gün öldü. Kalan 67 embriyodan 27 embriyoda anomali gözlemlendi. Gelişimin 1. gününde belirgin olarak gelişim geriliği ve vitellüs kesesinde ödem (Şekil 4.11.a), 3.gününde koryondan çıkışında gecikmeler, pigmentasyon oluşumunda gecikmeler ve kısmen perikardiyal ödemle birlikte içerisinde kanlanma görüldü (Şekil 4.11.b). Bazı embriyolarda 5.gününde koryondan çıkış, perikardiyal ödem, vitellüs kesesinde ödem ve kuyrukta eğrilik gözlemlendi (Şekil 4.11.c). Ayrıca 5.gününde koryondan çıkan bazı balıkların omurgasında eğrilik gözlemlendi. Buna ilaveten 27 anomali balıkta ilk 3 günde kalp atışı, ortalama dakikada 87 kez olarak hesaplandı.



Şekil 4.11. 0,453 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış embriyo ve larvaları a) 1.gün Zebra balığı prelarvası gelişim geriliği, vitellüs kesesinde ödem (okla gösterildi) b) 3.gün Zebra balığı prelarvası perikardiyal ödem ve içerisinde kanlanma (okla gösterildi), c) 5.gün Zebra balığı embriyosunda koryondan çıkan balığın kuyruğunda eğrilik (okla gösterildi), perikardiyal ödem(çemberle gösterildi), vitellüs kesesinde ödem (çizgiyle gösterildi), d) 5.gün Zebra balığı embriyosunda omurgada eğrilik (okla gösterildi).

4.1.6. 0,906 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış grup

Deney grubu dört kere tekrarlanmak üzere; 0,906 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış zebra balığı embriyoları kontrol grupları ile karşılaştırıldığında toplam 80 embriyo içerisinde 36'sı 1.gün öldü. Kalan 44 embriyoda anomali gözlemlendi. Gelişimin 1. gününde vitellüs kesesinde ödem (Şekil 4.12.a), 3.gününde koryondan çıkan bazı embriyolarda vitellüs kesesinde ödem, perikardiyal ödemle ve omurga ile kuyruğunda eğrilik görüldü (Şekil 4.12.b). 4.gününde bazı embriyolar koryondan çıkış, perikardiyal ödem, vitellüs kesesinde ödem ve kuyrukta eğrilik gözlemlendi (Şekil 4.12.c). Ayrıca 5.gününde koryondan çıkışını henüz yapmış bazı balıkların omurgasında eğrilik, gelişim bozukluğu, vitellüs kesesinde ve perikardiyal kısmında ödem gözlemlendi (Şekil 4.12.d). Bazı embriyoda ise omurgada hasar sonucu kanlanma gözlemlendi (Şekil 4.13.). Bu anomalilere ilaveten anomali görülen 44 balığın ilk 3 günde kalp atışı ortalama dakikada 73 kez olarak hesaplandı.



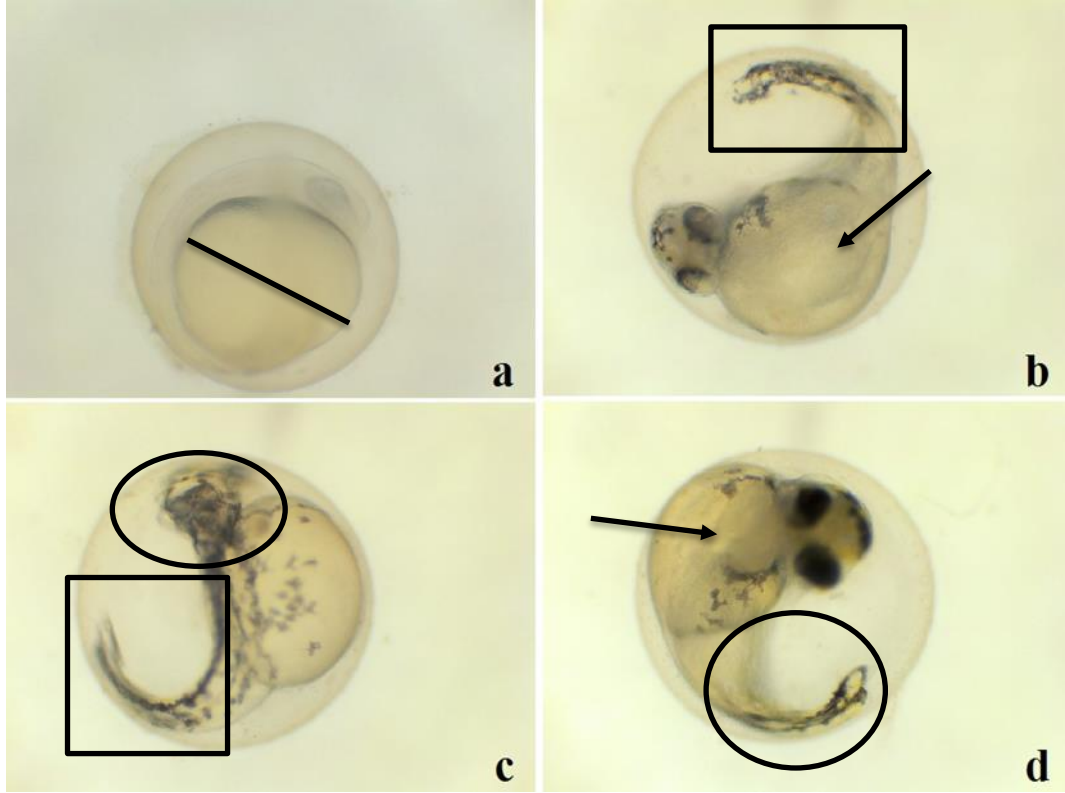
Şekil 4.12. 0,906 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış embriyo ve larvaları a) 1.gün Zebra balığı prelarvası vitellüs kesesinde ödem (çizgiyle gösterildi) b) 3.gün Zebra balığı prelarvası perikardiyal ve vitellüs kesesi ödem (okla gösterildi), omurga ile kuyrukta eğrilik(kare içerisinde gösterildi) c) 4.gün Zebra balığı embriyosunda koryondan çıkan balığın kuyruğunda ve omurgasında eğrilik (daireyle gösterildi), perikardiyal ödem, vitellüs kesesinde ödem (okla gösterildi), d) 5.gün koryondan henüz çıkmış Zebra balığı embriyosunda omurgada eğrilik (daireyle gösterildi), gelişim geriliği(kareyle gösterildi), perikardiyal ve vitellüs kesesinde ödem(okla gösterildi).



Şekil 4.13. 0,906 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış 5. gün koryondan çıkmış embriyonun omurgasında hasar ile birlikte kan birikimi (kareyle gösterildi).

4.1.7. 1,812 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış grup

Deney grubu dört kere tekrarlanmak üzere; 1,812 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış zebra balığı embriyoları kontrol grupları ile karşılaştırıldığında toplam 80 embriyo içerisinde 63'ü 1.gün öldü. Kalan 17 embriyodan 17'si ise 2 gün yaşayabildi ve bu iki günde anomali gözlemlendi. Gelişimin 1. gününde vitellüs kesesinde ödem (Şekil 4.14.a), 2.gününde yaşayan embriyolarda vitellüs kesesinde ödem, gelişim geriliği ve omurga ile kuyruğunda eğrilik görüldü (Şekil 4.14.b). 2.gününde yaşayan başka embriyoda ise göz ve belirgin kafa oluşumu olmadığı, vitellüs kesesinde ödem ve omurga ile kuyrukta eğrilik olduğu gözlemlendi (Şekil 4.14.c). Yine 2. gününde yaşayan başka bir embriyoda omurgasında eğrilik, gelişim geriliği ve vitellüs kesesinde ödem gözlemlendi (Şekil 4.14.d). Bu anomalilere ilaveten 17 anomali balığın ilk 2 günde kalp atışı ortalama dakikada 63 kez olarak hesaplandı.



Şekil 4.14. 1,812 mg/L Tribenuron metil uygulaması yapılmış embriyo ve larvaları a) 1.gün Zebra balığı prelarvası vitellüs kesesinde ödem (çizgiyle gösterildi) b) 2.gün Zebra balığı vitellüs kesesi ödem (okla gösterildi), omurga ile kuyrukta eğrilik (kare içerisinde gösterildi) c) 2.gün Zebra balığı embriyosunun kuyruğunda ve omurgasında eğrilik (kareyle gösterildi), vitellüs kesesinde ödem (okla gösterildi), belirgin göz ve baş yapısının oluşmaması (daireyle gösterildi) d) 2.gün Zebra balığı embriyosunda omurgada ve kuyrukta eğrilik (daireyle gösterildi), vitellüs kesesinde ödem(okla gösterildi).

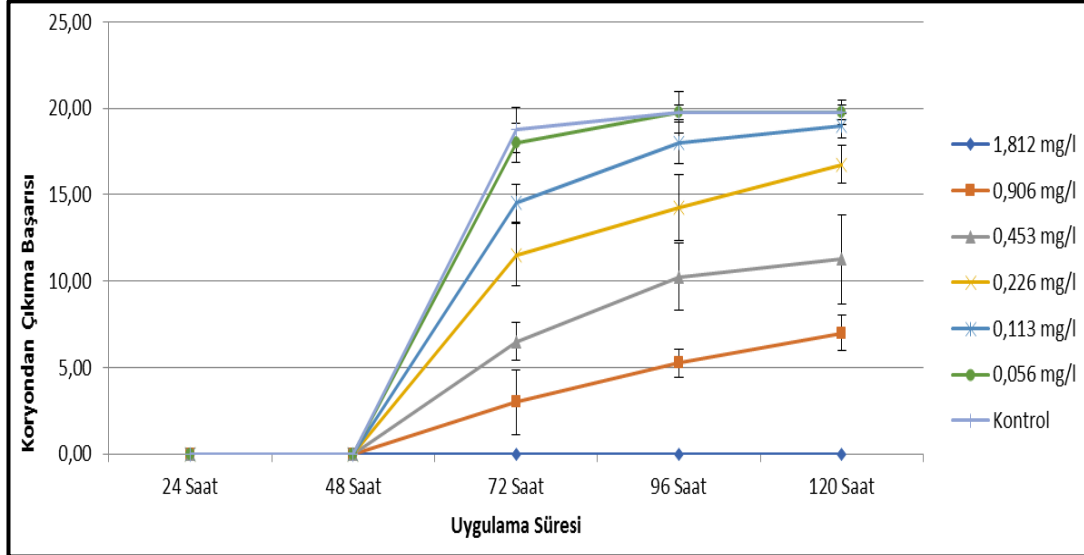
4.2. İstatistiksel Bulgular

IBM SPSS 23 programı ile kontrol grupları ile uygulama doz grupları arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklar için ANOVA testi kullanıldı. Doz grupları arasındaki farklar için TUKEY HSD testi kullanılmıştır. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı fark kabul edilmiştir. TUKEY HSD testine göre tribenuron metilin gelişimsel anomalilere neden olduğu ispatlandı ($p < 0.05$) (Tablo 4.1.).

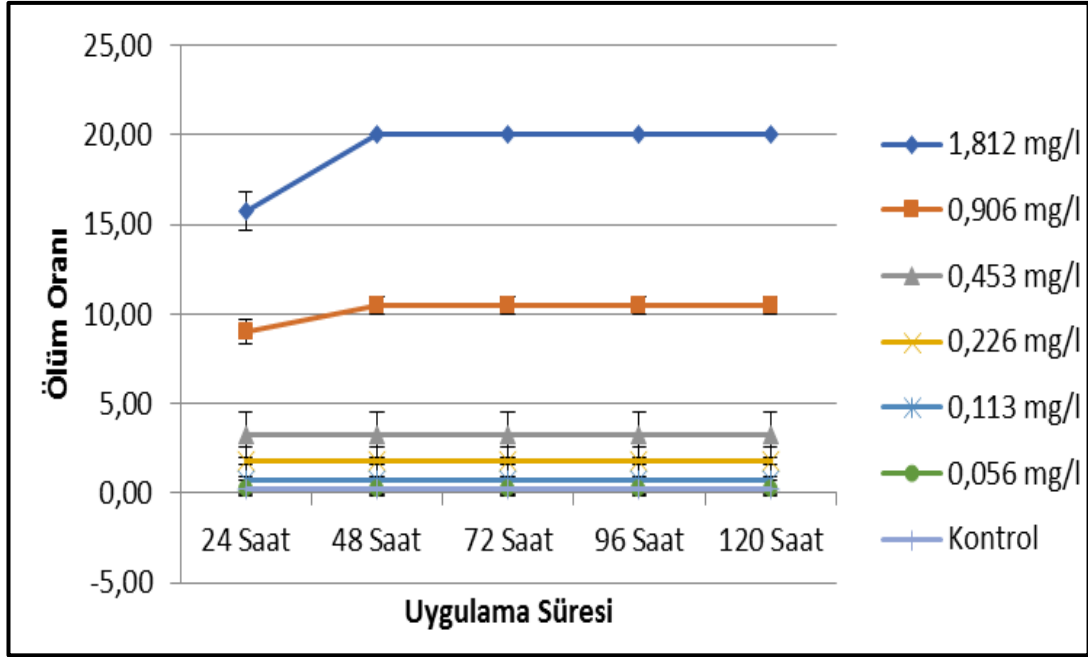
Tablo 4.1. * Kontrol Grubundan $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir.

Tribenuron Metil Zebra Balığı Anomali Oranı Tablosu					
	24 Saat	48 Saat	72 Saat	96 Saat	120 Saat
1,812 mg/l	4,25±1,09*	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
0,906 mg/l	11,00±0,71*	9,50±0,50*	9,50±0,50*	9,50±0,50*	9,50±0,50*
0,453 mg/l	6,75±1,09*	6,00±0,71*	6,00±0,71*	6,00±0,71*	6,00±0,71*
0,226 mg/l	2,50±0,50*	2,50±0,50*	2,50±0,50*	2,50±0,50*	2,50±0,50*
0,113 mg/l	1,25±0,43	1,25±0,43	1,25±0,43	1,25±0,43	1,25±0,43
0,056 mg/l	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Kontrol	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00

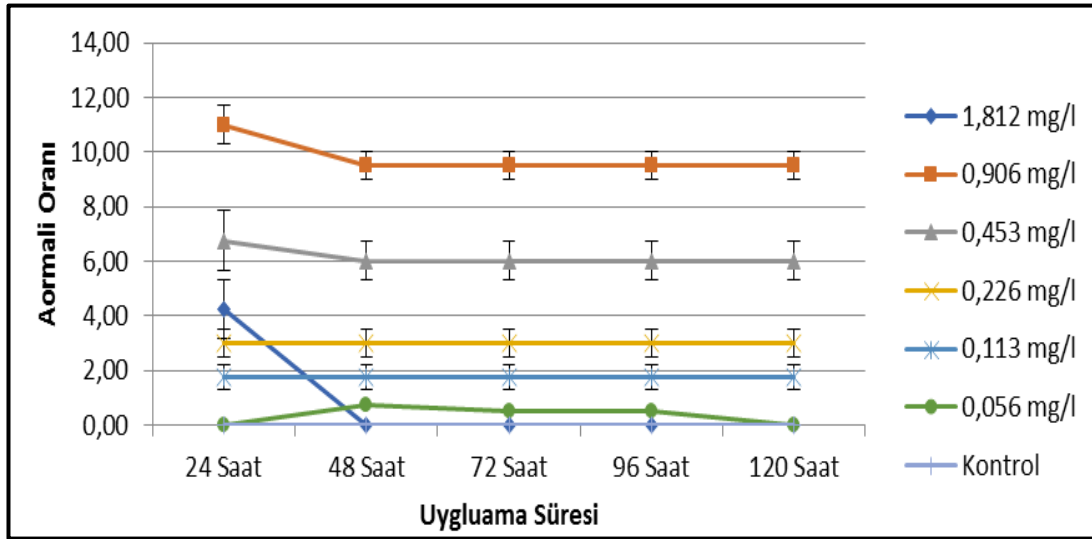
Tribenuron metil uygulaması sonucu zebra balığı embriyolarının koryondan çıkış oranı ($p < 0,05$) (Grafik 4.1.), ölüm oranı (Grafik 4.2.) ve gelişimsel anomalilerin oranı TUKEY testi analizi sonucunda tespit edildi (Grafik 4.3.). Uygulanan tribenuron meil miktarı arttıkça zebra balığı embriyolarının koryondan çıkış sürelerinin de uzadığı sonucuna varıldı (Grafik 4.1.). Aynı şekilde doz miktarı artışına paralel olarak ölüm (Grafik 4.2.) ve Gelişimsel anomali-gösteren balıkların sayısının arttığı görüldü (Grafik 4.3.).



Grafik 4.1. Tribenuron metil uygulanmış zebra balığı embriyolarına koryondan çıkışı



Grafik 4.2. Tribenuron metil uygulanmış zebra balığı embriolarının ölüm oranı



Grafik 4.3. Tribenuron metil uygulanmış zebra balığı embriolarının gelişimsel anomalileri

BÖLÜM 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada herbisit çeşitlerinden biri olan tribenuron metilin zebra balığı embriyo ve larvalarındaki etkileri teratolojik açıdan incelenmiştir. Laboratuvar koşullarında elde edilen embriyolara 6 farklı konsantrasyonda (1,812 mg/l, 0,906 mg/l, 0,453 mg/l, 0,226 mg/l, 0,113 mg/l, 0,056 mg/l) tribenuron metil uygulanmıştır. Tribenuron metilin embriyolar üzerinde meydana getirdiği teratolojik hasarlar 120 saat boyunca gözlenmiş ve bu sonuçlar istatistiksel olarak yorumlanmıştır. Tribenuron metilin zebra balığı embriyoları üzerinde oluşturduğu ışık mikroskobu altında incelenmiştir. İnceleme sonucunda doz miktarı arttıkça koryondan çıkış sürelerinde gecikme, omurga ve kuyrukta eğrilik, perikardiyal ve vitellüs kesesinde ödem ile kalp atış hızında azalma gözlemlendi.

Akbulut ve arkadaşları (2017) tarafından yapılan çalışmada LC₅₀ dozuna göre (40, 80 ve 120 mg/L) tribenuron metil, zebra balığı dişilerine uygulanmış ve balıkların ovaryum yapısında meydana gelen değişimler 72. saatin sonunda histolojik yöntemlerle incelenmiştir. Doz miktarı arttıkça ovaryum yapısında vakuolizasyon, ödem ve morfolojik bozulmalar gözlenmiştir. Ayrıca bu çalışma sonucunda primer ve olgun oosit sayısında doz arttıkça azalmalar olduğu istatistiksel olarak saptanmıştır. Bizim çalışmamızda ise embriyo üzerine yapılan incelemede; bu çalışmada olduğu gibi belirlenen LC₅₀ dozuna göre doz arttıkça anomalilerin olduğu belirlenmiştir.

Pestisit çeşitlerinden herbisitlerin sucul canlılar üzerinde ölümcül etkiye sahip olduğu çalışmalarda incelenen konudur (Perez ve ark., 2011). Tribenuron metil; sucul canlılarda az çalışılmıştır. Yön ve arkadaşları (2017) nın tribenuron metilin zebra balığının dalak dokusundaki hücrelerinde vakuolizasyon, hiperplazi ve yumuşak dokunun parçalanma meydana getirdiğini tespit etmişler ve 40, 80 ve 120 mg/L lik

dozlarda, doz miktarı arttıkça dalak dokularında anomali durumunun arttığını bildirmişlerdir.

Baghfalaki ve arkadaşları (2012) ise gümüş sazanı (*Hypophthalmichthys molitrix*), aynalı sazan (*Cyprinus carpio*) ve kardan balığı (*Rutilus rutilus caspicus*)'a 0, 50, 100, 200, 300 ve 500 ppm dozlarında tribenuron metil uygulamışlardır. Doz miktarı arttıkça balıkların davranışsal tepkilerinin (hızlı solungaç hareketi, yüzeyde yüzmeye hareketi, vücutta pigment azalması ve mukus salgısının artması) arttığını belirtmiştir. Bu çalışma sonucunda Avrupa Birliği Sınıflandırmasına göre tribenuron metil N R 50/53 ECB olduğunu göstermişlerdir. Yani tribenuron metil suda yaşayan canlılar için çok toksik olup uzun vadede olumsuz etkilere neden olabileceği belirtilmiştir. Bizim çalışmamızın sonucuna göre ise maddenin zebra balığı embriyolarına zarar verdiği tespit edilmiştir.

Tribenuron metil tarımda herbisit olarak yaygın kullanılmasına rağmen balıklar ve diğer sucul canlılara etkisi hakkında az bilgi vardır. Chen ve arkadaşları (2018), suni toprak içerisinde yaşayan Toprak solucanı (*Eisenia fetida*) üzerine uygulanan Tribenuron Metil'in etkisini incelemişlerdir. Çalışmada maddenin solucanda selüloz aktivite azalması ve bununla birlikte toprağın yapısını olumsuz yönde etkilediğini sonuçlandırmışlardır. Maddenin tahriş etme ve yok etme yapısından dolayı zarar verdiği düşünülmüştür.

Rachedi ve arkadaşları (2018) ise tribenuron metili, toprakta yaşayan ve ekolojik döngüyü sağlayan aktinobakterilere (*Actinobacteria*) uygulayarak büyüme ve karakteristik direnç durumlarını incelemişlerdir. Çalışma sonucunda maddenin aktinobakterilerde (*Actinobacteria*) morfolojik hasar oluşturduğu ve canlının maddeye karşı adaptasyon göstermediği ve direnç oluşturmadığını belirtmişlerdir.

Marzouk ve arkadaşları (2012), tribenuron metilin sıçanda (*Rattus*) kemik iliği hücrelerindeki sitogenetik etkilerini incelemişler ve maddenin zararlı olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmaya göre dozlar 5, 25, 50 ve 100 mg 48 saat aralıkla 21 gün

boyunca uygulanmıştır. Çalışma sonucunda doz miktarı arttıkça mitotik aktivitede azalma ile kromozomal anomaliliklerin sıklığında artış göstermişlerdir.

Herbisit çeşitlerinin, balık gelişimine teratolojik etki vermesi çalışmalarda incelenen konudur. Wiegand ve arkadaşları (2001), Atrazine'nin (2-chloro-4-ethylamino-6-isopropylamine-s-triazine) zebra balığı (*Danio rerio*) gelişimi üzerindeki teratolojik etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada 4, 10 ve 20 mg/L doz solüsyonları içerisindeki embriyoların gelişimi 48 saat boyunca izlenmiştir. Çalışma sonucunda doz arttıkça koryon çıkışında gecikme, epiboli süresinde gecikme ve kalp, dolaşım gibi fonksiyonel bozukları tespit etmişlerdir. Maddenin balık gelişimine morfolojik hasarlar bıraktığı düşünülmüştür. Bizim çalışmamızda da benzer bulgular elde edilmiştir.

Velki ve arkadaşları (2017), Diuron adlı herbisit zebra balığı (*Danio rerio*) embriyo ve larvalarının akut toksisitesi ve davranışlarına etkilerini incelemişlerdir. 1,2 ve 3,8 mg/L dozları uygulamaları sonucu embriyolarda davranışsal değişimler, koryon içerisinde kendiliğinden kıvrılma hareketlerinde azalma ve doz arttıkça kalp atışında azalma tespit etmişlerdir. Çalışmamızda ise kullandığımız tribenuron metilin dozu arttıkça kalp atışında azalma olduğu görülmüştür.

Perez ve arkadaşları (2013), s-trazin (atrazin ve terbutilazin) herbisit Zebra balığı (*Danio rerio*) gelişimi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada ikili herbisit karışımından oluşan solüsyonun, embriyoda sinerjistik tepki ve morfolojik bozulmalara neden olduğu; ayrıca larvada yüzme davranışlarında bozulma olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda ise kullanılan herbisit dozu arttıkça, zebra balığı larvasında vitellüs kesesinde ödem ve omurgada var olan eğriliğinden dolayı dengeli yüzemediği gözlenmiştir.

Herbisitlerin sınırsız ve kontrolsüz kullanımı insan sağlığı ve ekolojik denge için ciddi sonuçlar doğurabilir. Rodrigues ve arkadaşları (2016), salatalık (*Cucumis sativus*), marul (*Lactuca sativa*), domates (*Lycopersicon esculentum*) ve *Artemia salina* ve zebra balığına (*Danio rerio*), herbisit madde olarak kullanılan Roundup

toksisite testi uygulamışlardır. LC_{50} dozuna göre 14.19 mg/L ve 37.53 mg/L dozlarının, salatalık (*Cucumis sativus*), marul (*Lactuca sativa*) ve domates (*Lycopersicon esculentum*) türlerinin kök oluşumuna önemli ölçüde inhibe ettiğini bulmuşlardır. *Artemia salina* ve Zebra balığına (*Danio rerio*) 10,17 mg/L ve 27,13 mg/L dozlarda Roundup uygulandığında embriyo evrelerinde toksik etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada, herbisitlerin ekolojik sürecini olumsuz şekilde etkilediği düşünülmüştür.

Sonuç olarak, farklı herbisitlerin canlıların embriyo, davranış ve dokuları üzerine olumsuz etkileri çeşitli çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır. Yapılan literatür taraması sonucunda herhangi bir model organizmada tribenuron metilin embriyo üzerine etkilerini gösteren bir çalışmaya rastlanamamıştır. Bu bağlamda çalışmamız öncü bir çalışmadır. Farklı dozlarda olsa bile herbisitlerin ekosisteme girmesi pek çok canlıya zarar vermektedir. Bu bağlamda tribenuron metil ve bunun gibi herbisitlerin maruziyetinden mümkün olduğunca kaçınılmalıdır. Tribenuron metil uygulamasının dokuların hücre morfolojisinde değişimlere sebep olduğu histolojik çalışmalar ile gösterilmiştir. Bu çalışmanın bu konuda yapılacak diğer çalışmalara temel olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- Akbulut, C., Ozturk B., Uzun A., YON N. D., 2017. Tribenuron methyl exposure inhibits oogenesis in Zebra fish(*Danio Rerio*), Indian J. Fish., 64(2): 127-131.
- Ahrens, W., 1974. Herbicide handbook, ed 7, Champaign, Weed Science Society of America, 22: 374-389.
- Baghfalaki, M., Shaluei, F., Hedayati, A., Jahanbakhshi, A. ve Khalili, M. 2012. Acute toxicity assessment of tribenuron-methyl herbicide in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*), common carp (*Cyprinus carpio*) and caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*), Global Veterinaria 8 (3), 280-284.
- Başaran, M. S. ve Serim, A. T. 2010. Herbisitlerin Toprakta Parçalanması, Selçuk Üniversitesi Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi.
- Büküm, B., 2012. Enerji Bitkilerinde Yabancı Ot Sorunları ve Neden Oldukları Kayıplar, Tarım Makinaları Bilimi Dergisi.
- Chen, J., Saleem, M., Wang, C., Liang, W. ve Zhang, O. 2018. Individual and combined effects of herbicide tribenuron-methyl and fungicide tebuconazole on soil earthworm *Eisenia fetida*, Scientific Reports.
- Cirujeda, A., Recasens, J. ve Taberner, A. 2001. A qualitative quick -test for detection of herbicide resistance to tribenuron -methyl in *Papaver rhoeas*. Weed Research, 41. 523-534.
- Curran, W.S., Loux, M.M., Liebl, R.A. ve f. William, F. 1992. Photolysis of Imidazolinone Herbicides in Aqueous Solution and on Soil Weed Science. Vol40:143–148.
- Devlin, D.L., Peterson, D.E. ve Regehr, D.L. 1992. Residual Herbicides, Degradation, and Recropping Intervals. Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service. File code: Crops and Soils-5-2 (Herbicides).
- EPA, 1989. PesticideFactSheet. Tribenuron methyl Herbicide Profile 6/89. FactSheet No:219, Data Issued: June 30.
- EPA (Environmental Protection Agency), 2009. Types of Pesticides. Washington D.C., USA

- FAO, 2002. Food and Agricultural Organization of the United Nations, FAO Specifications and Evaluations For Plant Protection Products, TribenuronMethyl.syf 17.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2002. International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides. Retrieved on 2007-10-25.
- Figueiredo-Fernandes, A., Fontai'nhas-Fernandes, A., Peixoto, F., Rocha, E., Reis-Henriques, M.A., 2006. Effects of gender and temperature on oxidative stress enzymes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to paraquat. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 85: 97–103.
- Hisaoka, K.K. ve Battle H. I. 1958. The Normal Developmental Stages Of The Zebrafish, *Branchydanio Rerio*.102,311-327.
- Kimmel, C.B., Ballard W.W., Kimmel S.R., Ullman B. ve Schilling T.F. 1995. Stages of Embryonic Development of Zebrafish, *Developmental Dynamics*,203: 253-310.
- Marzouk A., Mossa, H. ve Sabra, F., 2012. Cytogenetic effects of technical and formulated Tribenuron-methyl on rat bone-marrow cells, *Journal of pharmacology and toxicology*, 7: 330-337.
- Oruç, E.Ö., Sevgiler, Y. ve Uner, N., 2004. Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2,4-D and azinphosmethyl. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 137: 43–51.
- Perez G. L., Vera M. S. ve Miranda L. A. 2011. Effects of herbicide glyphosate and glyphosate-based formulations on aquatic ecosystems, in *Herbicides and Environment*, ed A. Kortekamp, 343-368.
- Perez J., et al., 2013. Synergistic effects caused by atrazine and terbuthylazine on chlorpyrifos toxicity to early-life stages of the zebrafish (*Danio rerio*), *Environmental Science and Pollution Research*, 4671-4680.
- Rachedi, K., Zermane, F., Tir R., Ayache, F., Duran, R., Lauga, B., Karama, S., Simon, M. ve Boulahrouf, A. 2018. Effect of sulfonylurea tribenuron methyl herbicide on soil Actinobacteria growth and characterization of resistant strains, *Brazilian journal of microbiology*.
- Rodrigue,s L., et al., 2016. Ecotoxicological assessment of glyphosate- based herbicides: Effects on different organisms, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36:1755–1763.
- Şık, B., et al., 2012. "Gıda Güvenliği Açüsündan Endokrin Sistem Bozucu Pestisitler." *Academic Food Journal/Akademik GIDA* 10.2.

- Tursun, N. 2012. Buğday Ekim Alanlarında Görülen Kısır Yabani Yulaf (*Avenasterilis* L.)'ın Fenoxaprop-ethyl Etkili Maddeli Herbisitlere Karşı Dayanıklılığının Hızlı Test Yöntemi ile Belirlenmesine Yönelik Araştırmalar, *Tarım Bilimleri Dergisi*.
- Velki, M., Paolo, C., Nelles, J., Seiler, T. ve Hollert, H. 2017. Diuron and diazinon alter the behavior of zebrafish embryos and larvae in the absence of acute toxicity, *Chemosphere*, 65-76.
- Wiegand, C., Pflugmacher, S., Krause, E. ve Steinberg, C. 2001. Uptake, Toxicokinetics of Atrazine in Embryos of the Zebrafish, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 199-205.
- Xiaoshan, Z., Jiangxin, W., Xuezhi, Z., Yung, C. ve Yongsheng, C. 2009. The Impact Of Nanoparticle Aggregates On The Embryonic Development Of Zebrafish, 130-137.
- Yön, N.D., Öztürk, B. ve Akbulut, C. 2017. Histological effects of Tribenuron Methyl spleen tissue of Zebrafish, *The Turkish Journal of Occupational/ Environmental Medicine and Safety*, ISSN: 2149-4711.

ÖZGEÇMİŞ

Burcu Öztürk, 27.02.1992'de İstanbul'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini İstanbul'da tamamladı. 2010 yılında Üsküdar Cumhuriyet Lisesi'nden mezun oldu. 2010 yılında başladığı Sakarya Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nü 2014 yılında bitirdi. 2018 yılında Sakarya Üniversitesi Biyoloji Anabilim dalının Biyoloji Bilim dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı.