

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

STROBİLURİN FUNGİSİTİ AZOXYSTROBİN'İN SİVRİSİNEK BALIĞI
Gambusia holbrooki (Girard, 1859) ÜZERİNDE AKUT VE KRONİK
TOKSİSİTESİ

BERKAY DUVAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Utku GÜNER

EDİRNE-2023

BERKAY DUVAR' ın hazırladığı “**STROBİLURİN FUNGİSİTİ AZOXYSTROBİN'İN SİVRİSİNEK BALIĞI *Gambusia holbrooki* (Girard, 1859) ÜZERİNDE AKUT VE KRONİK TOKSİSİTESİ**” başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Biyoloji Anabilim Dalında bir **Yüksek lisans tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Prof. Dr. Utku GÜNER

.....

Prof. Dr. Fulya Dilek GÖKALP

.....

Dr. Öğr. Üyesi Orhan Onur AŞKIN

.....

Tez Savunma Tarihi: 01.12.2023

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

İmza

Prof. Dr. Utku GÜNER

Tez Danışmanı

.....

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

.....

Prof. Dr. Özlem ÇETİN ERDOĞAN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü.FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

01.12.2023

Berkay Duvar

İmza

Yüksek Lisans Tezi

Strobilurin Fungisiti Azoxystrobin'in Sivrisinek Balığı *Gambusia holbrooki* (Girard, 1859) Üzerinde Akut ve Kronik Toksisitesi

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Azoxystrobin dünya çapında yaygın olarak kullanılan strobilurin grubu bir fungusit olup gelişigüzel kullanımı yüzey akışı yoluyla su kütlelerini kirletebilmekte ve biyolojik birikim yolu ile suda yaşayan hedef dışı organizmaları olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Strobilurin grubu fungusitlerin tatlı su balıkları üzerindeki potansiyel toksisitesi hakkında kısıtlı bilgi birikimi bulunmaktadır.

Bu çalışmada, ülkemizde sivrisinekle biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılan *Gambusia holbrooki* balığı üzerinde azoxystrobinin akut toksik etkileri ve 100 gün boyunca negatif kontrol, 0,068 mg/L, 0,136 mg/L ve 0,204 mg/L konsantrasyonlara maruz bırakılarak homojen dağılım, yüzeyde yüzme, hareketlilik, göğüs yüzgeçlerinde hareketlilik, kuyruk yüzgeçlerinde hareketlilik, yem tüketimi, kur yapma davranışı, kümelenme, dipte yüzme, deri renk değişimi, solungaçlarda kanlanma, denge kaybı, saldırganlık, saat yönünde hareket ve saatin tersi yönde hareketlerin kronik toksik etkileri değerlendirilmiştir.

Akut toksisite testi için statik test yöntemi kullanılmıştır. Akut deneyler negatif kontrol grubu ile 1,0 mg/L, 1,3 mg/L, 1,5 mg/L ve 1,8 mg/L azoxystrobin konsantrasyonlarıyla 3 kez tekrarlanmış ve *Gambusia holbrooki* için 96 saatlik LC₅₀ belirlenmiştir. Azoxystrobin akut toksisite testlerinden elde edilen veriler probit analizi istatistiksel yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. *Gambusia holbrooki* için 96 saatlik LC₅₀ değeri 1,362 mg/L olarak belirlenmiştir.

Tüm kronik parametreler dikkat alındığında artan azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan *Gambusia holbrooki*'de negatif kontrol grubuna kıyasla balıklarda homojen dağılım, yüzeyde yüzme, hareketlilik, göğüs yüzgeçlerinde hareketlilik, kuyruk yüzgeçlerinde hareketlilik, yem tüketimi ve kur yapma davranışı parametreleri azalma eğilimi gösterirken; kümelenme, dipte yüzme, deri renk değişimi, solungaçlarda kanlanma, denge kaybı, saldırganlık artma eğilimi göstermektedir. Saat yönünde hareket ve saatin tersi yönde hareketler ise artan konsantrasyon gruplarında negatif kontrol grubuna göre değişmemiştir.

Artan azoxystrobin konsantrasyonlarına göre *Gambusia holbrooki* bireylerinde meydana gelen davranışsal ve bazı fiziksel değişiklikler olumsuz etkilere sahip olabileceği sonucuna varılabilir.

Yıl : 2023

Sayfa Sayısı : 104

Anahtar Kelimeler : *Gambusia holbrooki*, azoxystrobin, fungusit, strobilurin, akut toksisite, kronik toksisite, LC₅₀

Master Degree Thesis

Acute and Chronic Toxicity of the Strobilurin Fungicide Azoxystrobin on the Mosquitofish *Gambusia holbrooki* (Girard, 1859)

Trakya University Institute of Natural Sciences

Biology Department

ABSTRACT

Azoxystrobin is a strobilurin group fungicide widely used worldwide and its indiscriminate use can contaminate water bodies through surface runoff and adversely affect non-target aquatic organisms through bioaccumulation. There is limited information on the potential toxicity of strobilurin group fungicides on freshwater fish.

In this study, we investigated the acute toxic effects of azoxystrobin on *Gambusia holbrooki* fish, which is used as a biological mosquito control agent in our country, and its homogeneous distribution, surface swimming, mobility, and homogeneous distribution after exposure to negative control, 0.068 mg/L, 0.136 mg/L and 0.204 mg/L concentrations for 100 days, Chronic toxic effects of pectoral fin activity, caudal fin activity, feed consumption, courtship behaviour, aggregation, bottom swimming, skin discolouration, gill bleeding, loss of balance, aggression, clockwise movement and anti-clockwise movement were evaluated.

Static test method was used for acute toxicity test. Acute experiments were repeated 3 times with 1.0 mg/L, 1.3 mg/L, 1.5 mg/L and 1.8 mg/L azoxystrobin concentrations with negative control group and 96 h LC₅₀ was determined for *Gambusia holbrooki*. The data obtained from azoxystrobin acute toxicity tests were evaluated using the probit analysis statistical method. The 96-hour LC₅₀ value for *Gambusia holbrooki* was determined as 1,362 mg/L.

When all chronic parameters were taken into consideration, homogeneous distribution, surface swimming, mobility, pectoral fin mobility, caudal fin mobility, feed consumption and courtship behaviour parameters showed a tendency to decrease in *Gambusia holbrooki* exposed to increasing azoxystrobin concentrations compared to the negative control group, while aggregation, bottom swimming, skin discolouration, gill bleeding, loss of balance and aggression showed a tendency to increase. Clockwise movement and anti-clockwise movement did not change in increasing concentration groups compared to the negative control group.

It can be concluded that increasing azoxystrobin concentrations may have negative effects on behavioural and some physical changes in *Gambusia holbrooki* individuals.

Year : 2023

Number of Pages : 104

Keywords : *Gambusia holbrooki*, azoxystrobin, fungicide, strobilurin, acute toxicity, chronic toxicity, LC₅₀

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarımın her aşamasında, mesleki bilgi ve önerilerini paylaşarak bana yol gösteren sevgili danışman hocam Sayın Prof. Dr. Utku GÜNER (Trakya Üniversitesi Biyoloji Bölümü Hidrobiyoloji Ana Bilim dalı)'e, desteklerinden dolayı Hidrobiyoloji Bölümü hocalarıma; çalışmalar süresince öneri ve destekleriyle bana ağabeylik yapan değerli hocam Doç. Dr. Mitat AYDOĞDU (Trakya Üniversitesi Biyoloji Bölümü Zooloji Ana Bilim dalı)'ya; çalışmamın çeşitli aşamalarında yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Fulya Dilek GÖKALP (Trakya Üniversitesi Biyoloji Bölümü Genel Biyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı)'e; araştırmamın her aşamasında yardımcı olan, bilgi ve becerilerini benimle paylaşan sevgili arkadaşım Arş. Gör. Ayça EREK (Trakya Üniversitesi Eczacılık Fakültesi)'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Üzerimde emeğiniz büyük yürekten teşekkür ederim.

Aynı zamanda, beni yetiştirip bugünlere gelebilmem için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan ve tez çalışmamda da maddi ve manevi olarak her zaman yanımda olan aileme ve her an desteğini yanımda hissettiğim ve büyük özveri gösteren hayat arkadaşım Yaren YILMAZ'a içtenlikle sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Berkay DUVAR

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER DİZİNİ.....	xi
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvii
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2	5
GENEL BİLGİLER	5
2.1. Strobilurin Fungisitlerine Genel Bakış.....	5
2.1.1. Strobilurinlerin Fizikokimyasal Dönüşümü	7
2.1.2. Strobilurinlerin Ekotoksitesitesi	8
2.1.3. Strobilurin Fungisitlerinin Balık Türlerinde Toksik Etkileri	9
2.1.4. Strobilurin Fungisitlerinin Balık Türleri Üzerindeki Akut Toksisitesi	10
2.1.5. Balıklarda Strobilurin Maruziyetini Takiben Nörotoksosite ve Davranışsal Etkileri	11
2.1.6. Strobilurin Fungisitlerinin Tatlısu Balıkları Üzerindeki Kronik Toksik Etkileri	12
2.2. Azoxystrobin	13
2.3. <i>Gambusia</i> sp. (Sivrisinek Balığı)	16
2.3.1. <i>Gambusia</i> sp.'nin Morfolojisi	17

2.3.2. <i>Gambusia sp.</i> ’nin Üremesi, Büyümesi ve Gelişimi	18
2.3.3. <i>Gambusia sp.</i> ’nin Beslenmesi	19
2.3.4. <i>Gambusia sp.</i> ’nin Biyolojik Mücadeledeki Yeri ve Türkiye’deki Durumu.....	19
2.4. Strobilurin Fungisitlerinin Akutik Ortamda Toksisitesi	20
BÖLÜM 3	22
MATERYAL VE METOT	22
3.1. Deney Hayvanlarının Temini	22
3.2. Deneyde Kullanılan Azoxystrobin Çözeltilisinin Hazırlanması	25
3.3. Deneylerde Kullanılan Yöntemler.....	26
3.3.1. Akut Toksisite Deney Sistemi	27
3.3.2. Kronik Toksisite Deney Sistemi.....	30
3.3.3. Akut ve Kronik Deney Sonuçlarının Değerlendirilmesi	32
BÖLÜM 4	35
SONUÇLAR	35
4.1. Akut Toksik Etki, LC ₅₀ Değerinin Belirlenmesi ve Değerlendirilmesi	35
4.2. Kronik Toksik Etkilerin Belirlenmesi ve Değerlendirilmesi	44
BÖLÜM 5	64
TARTIŞMA	64
KAYNAKLAR	75
ÖZGEÇMİŞ	86

SİMGELER DİZİNİ

$\leq$	Küçük eşit
$\geq$	Büyük eşit
&	ve
®	Ticari marka
%	Oran/yüzde
°C	Santigrat
β	Beta
$t_{1/2}$	Yarılanma ömrü
cm	Santimetre
C	Karbon
H	Hidrojen
N	Azot
O	Oksijen
Cl	Klor
F	Flor
Pa	Paskal
mPa	miliPaskal
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
m	Metre
mg	Miligram
mm	Milimetre
nm	Nanometre
mol	Moleküler ağırlık
mV	Milivolt
w	Ağırlık
n	Sayı
ppm	Parts per million (Milyonda bir birim)

ppt	Parts per thousand (Binde bir birim)
IE	International Unit (Uluslararası Birim)
p	Anlamlılık değeri
r	Korelasyon değeri
pH	Hidrojen gücü
μ S	Mikrosiemens
CPS	Centipoises (santipoiz)
RPM	Revolutions per minute (Dakika başına devir sayısı)



KISALTMALAR DİZİNİ

EFSA	European Food Safety Authority (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi)
OECD	The Organisation for Economic Co-operation and Development (Ekonomik Kalkınma ve İş birliği Örgütü)
ISO	International Organization for Standardization (Uluslararası Standartlar Teşkilatı)
IUPAC	Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
CIPAC	Uluslararası Pestisit Analitik Konseyi İşbirliği
IBM	International Business Machines®
EPA	Çevre Koruma Ajansı
FISK	Fish Invasiveness Screening Kit
CAS	Kimyasal Özetler Servisi
ATP	Adenozin trifosfat
ETC	Elektron taşıma zincirini
EC	Electrical Conductivity (Elektriksel İletkenlik)
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
LC	Lethal concentration (Letal konsantrasyon)
LC ₅₀	Median lethal concentration (Ortalama letal konsantrasyon)
LDO	Luminescent dissolved oxygen (Lüminesan çözünmüş oksijen)
TDS	Total dissolved solids (Toplam çözünmüş katı)
T.C.	Türkiye Cumhuriyeti
UV	Ultraviyole
PP	Polipropilen
PS	Polistren
DNA	Deoksiribonükleik asit
DDT	dikloro-difenil-trikloroetan
sp.	Cinse ait belirtilmemiş bir tür

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Strobilurinlerin moleküler yapıları (Wang vd., 2021).	6
Şekil 2.2. Azoxystrobin Kimyasal Yapı Gösterimi.	14
Şekil 2.3. Dişi (büyük olan) ve erkek (küçük olan) <i>Gambusia holbrooki</i> (Yoğurtçuoğlu, 2016).	17
Şekil 3.1. Balıkların akvaryuma alınması.	23
Şekil 3.2. Stok akvaryumunun üstten görünümü.	24
Şekil 3.3. Akut toksisite ön tarama deney düzeneği.	28
Şekil 3.4. Akut toksisite deney düzeneği.	29
Şekil 3.5. Kronik toksisite deney düzeneği.	31
Şekil 4.1. Akut toksisite deneylerinde 24 saatlik konsantrasyona bağlı konsantrasyon-yüzde mortalite grafiği.	36
Şekil 4.2. 1,8 mg/L’de 24 saatin sonunda ölen deney hayvanının göz çevresinde ve solungaçlarında meydana gelen kanlanma.	37
Şekil 4.3. Akut toksisite deneylerinde 48 saatlik konsantrasyona bağlı konsantrasyon-yüzde mortalite grafiği.	37
Şekil 4.4. 1,8 mg/L’de 48 saat sonunda gözlemlenen ölü yavrular.	38
Şekil 4.5. Akut toksisite deneylerinde 72 saatlik konsantrasyona bağlı konsantrasyon-yüzde mortalite grafiği.	39
Şekil 4.6. Akut toksisite deneylerinde 96 saatlik konsantrasyona bağlı konsantrasyon-yüzde mortalite grafiği.	40
Şekil 4.7. Akut toksisite deneylerinde 0, 24, 48, 72 ve 96 saatlik konsantrasyonlara bağlı konsantrasyon-yüzde mortalite grafiği.	41
Şekil 4.8. Akut toksisite deneylerinde 96 saatlik konsantrasyona bağlı konsantrasyon-yüzde mortalite grafiği.	42
Şekil 4.9. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan <i>Gambusia holbrooki</i> ’ nin homojen dağılım aktivitesi üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.	46
Şekil 4.10. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan <i>Gambusia holbrooki</i> ’ nin kümelenme aktivitesi üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.	47

Şekil 4.11. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan <i>Gambusia holbrooki</i> ' nin yüzeyde yüzme aktivitesi üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.	48
Şekil 4.12. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan <i>Gambusia holbrooki</i> ' nin dipte yüzme aktivitesi üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.....	49
Şekil 4.13. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan <i>Gambusia holbrooki</i> ' nin hareketlilik aktivitesi üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.	50
Şekil 4.14. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan <i>Gambusia holbrooki</i> ' nin deri renk değişikliği üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.....	51
Şekil 4.15. Deri renk değişimi gözlenen <i>Gambusia holbrooki</i>	52
Şekil 4.16. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan <i>Gambusia holbrooki</i> ' nin göğüs yüzgeçlerindeki hareketlilik aktivitesi üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.....	53
Şekil 4.17. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan <i>Gambusia holbrooki</i> ' nin kuyruk yüzgeçlerindeki hareketlilik aktivitesi üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.....	54
Şekil 4.18. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan <i>Gambusia holbrooki</i> ' nin saat yönünde hareket aktivitesi üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.	55
Şekil 4.19. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan <i>Gambusia holbrooki</i> ' nin saatin tersi yönde hareket aktivitesi üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.	56
Şekil 4.20. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan <i>Gambusia holbrooki</i> ' nin solungaçlarda meydana gelen kanlanma üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.....	57
Şekil 4.21. Solungaçlarda kanlanma gözlenen <i>Gambusia holbrooki</i>	58
Şekil 4.22. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan <i>Gambusia holbrooki</i> ' nin denge kaybı üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.....	58
Şekil 4.23. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan <i>Gambusia holbrooki</i> ' nin yem tüketimi üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.....	59
Şekil 4.24. Her 10 gün sonunda deney suyu değiştirilmeden önce akvaryumlarda tüketilmeyen yem miktarlarının konsantrasyona bağlı değişimi (A şeklinden D şekline akvaryumda artış gösteren yem kalıntıları).....	61

Şekil 4.25. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan *Gambusia holbrooki*' nin saldırganlık üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi. 62

Şekil 4.26. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan *Gambusia holbrooki*' nin kur yapma davranışı üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi. 63



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Trakya Bölgesinde Pestisit Kullanımı.	2
Çizelge 2.1. Azoxystrobin ile ilgili genel bilgiler.	13
Çizelge 2.2. <i>Gambusia</i> 'nın bilimsel sınıflandırması (Froese, 2005).	16
Çizelge 3.1. Balıkların toplandığı zamanda doğal yaşam suyunun fizikokimyasal özellikleri.	22
Çizelge 3.2. Deneylerde kullanılan fungusitin temel fizikokimyasal özellikleri.	25
Çizelge 3.3. Akut toksisite LC ₅₀ deneyleri ön tarama testi konsantrasyonları.	27
Çizelge 3.4. Akut ön tarama toksisite deneyi gruplarının fiziksel parametrelerinin değerleri (Tekrar deneylerinin değerleri de hesaplamaaya dahil edilmiştir, ortalama ± standart sapma).	29
Çizelge 3.5. Akut ön tarama toksisite deneyi gruplarının ortam sıcaklığı (Tekrar deneylerinin değerleri de hesaplamaaya dahil edilmiştir, ortalama ± standart sapma). ...	30
Çizelge 3.6. Akut toksisite deney gruplarının fiziksel parametrelerinin değerleri (Tekrar deneylerinin değerleri de hesaplamaaya dahil edilmiştir, ortalama ± standart sapma). ...	30
Çizelge 3.7. Akut toksisite deneyi gruplarının ortam sıcaklığı (Tekrar deneylerinin değerleri de hesaplamaaya dahil edilmiştir, ortalama ± standart sapma).	30
Çizelge 3.8. Kronik toksisite deney gruplarının fiziksel parametrelerin 100 günlük ortalaması (ortalama ± standart sapma).	32
Çizelge 3.9. Kronik toksisite deneyinde 100 gün boyunca dikkat edilecek parametreler ve değerlendirmeleri.	33
Çizelge 3.10. Kronik toksisite deney gözlem ölçeği.	34
Çizelge 4.1. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında <i>Gambusia holbrooki</i> 'nin 24,48,72 ve 96 saatlik ölüm sayıları ve yüzdeleri.	35
Çizelge 4.2. %95 güven aralığında azoxystrobinin <i>Gambusia holbrooki</i> için 24, 48, 72 ve 96 saatlik LC ₅₀ değerleri (mg/L).	42
Çizelge 4.3. %95 güven aralığında Azoxystrobinin <i>Gambusia holbrooki</i> için 24, 48 ve 72 saatlik LC değerleri (mg/L).	43
Çizelge 4.4. %95 güven aralığında azoxystrobinin <i>Gambusia holbrooki</i> için 96 saatlik LC değerleri (mg/L).	44

Çizelge 4.5. Kronik toksisite deneylerinde görülen bazı fiziksel ve davranışsal değişikliklerin değerlendirilmesi (ortalama $\pm$ standart sapma).	45
Çizelge 5.1. Azoxystrobinin farklı balık türleri için 96 saatlik LC ₅₀ değerleri.....	65
Çizelge 5.2. Strobilurin grubu fungusitlerin farklı balık türlerinin erginleri için 96 saatlik LC ₅₀ değerleri.....	67



BÖLÜM 1

GİRİŞ

Pestisitler, tarımsal alanlarda yoğun bir şekilde zararlı (böcek, yabancı ot, funguslar, akarlar, bakteri, vs.) kontrolü için kullanılan fiziksel, kimyasal ve biyolojik ajanlardır.

Modern tarımdaki yeni gelişmeler ve küresel nüfustaki artışa bağlı olarak pestisitlerin gelişigüzel kullanılması çevre kirliliğine bağlı olarak biyoçeşitliliğin de azalmasına neden olmuştur (Taheri Mirghaied vd., 2018). Tarım alanında, etkili böcek öldürücülerde yeni etki mekanizmalarına odaklanma, entegre zararlı yönetimi ve direnç yönetimi tekniklerinin benimsenmesi, eski bileşik sınıflarının yerine geçerek daha büyük çevresel risklere neden olduğuna inanılan maddelerin kullanımını azaltma eğilimindedir (Wing vd., 2000).

Fungisitler, tarım arazilerinde genellikle bitki patojeni funguslara karşı yoğun olarak kullanılan pestisitlerdir. Bitki patojenlerinin neden olduğu önemli hastalıkların önlenmesi ve kontrolü için etkili bir araçtır. Bununla birlikte, geleneksel fungisitlerin yaygın ve sürekli kullanımı çevresel kontaminasyon yaratır ve buna bağlı olarak kirlilik ile birlikte doğadaki dengenin bozulmasına neden olur. Fungusları kontrol etmek için yaygın olarak kullanılan kimyasallar, çevre kirliliğine ve hedef olmayan organizmalar için toksisite riskine neden olur (Gamil vd., 2011).

Türkiye'nin Avrupa kıtasında yer alan Trakya bölgesi, 946.096 hektardan oluşan yoğun tarım arazilerine sahiptir. Bu bölgede mahsullerin verimi arttırmak için Çizelge 1.1'de görüldüğü üzere başta herbisitler olmak üzere fungisitler ve insektisitler yoğunlukla tarım arazilerine uygulanan pestisitlerdir.

Çizelge 1.1. Trakya Bölgesinde Pestisit Kullanımı.

Pestisit Çeşitleri	Edirne	Tekirdağ	Kırklareli	Toplam (kg/lt)
İnsektisitler (kg/lt)	74.952	48.439	5.930	129.321
Fungisitler (kg/lt)	286.849	285.054	47.298	619.201
Herbisitler (kg/lt)	599.288	296.832	58.843	954,963
Akarisitler (kg/lt)	4.624	2.663	0	7.287
Rodentisitler ve Mollussisitler (kg/lt)	114	876	7	997
Diğer (kg/lt)	10.388	1.438	0	11.826
Toplam (kg/lt)	976.215	635.302	112.078	1.723.595

(Türkiye Cumhuriyeti Çevre Şehircilik ve İklim Değişikliği Bakanlığı, 2022)

Son zamanlarda, yapılan çalışmalar Trakya bölgesinin su kaynaklarında oluşan kirlilik zirai kimyasal ilaçlarının varlığını ortaya koymaktadır (Çebi vd., 2019; Çebi vd., 2017; Kulaksız & Akgün, 2020; Öner vd., 2004; Öterler, 2009; Özcan, 2018; Soylu, 2018). Sanayileşmenin bazı bölgelerde daha fazla artış göstermesi neticesinde kırsal kesimden şehirlere gelen iç göç belirli bölgelerde çarpık ve düzensiz kentleşmeyi de beraberinde getirmiştir. Bu durumdan Trakya Bölgesi de etkilenmektedir. İstanbul'a yakın olan Çorlu, Çerkezköy, Lüleburgaz arasında artan sanayileşme ile meydana gelen iç göç, yerleşim alanlarının artmasına sebebiyet vermiştir. Bu durum verimli tarım arazilerinin azalmasına, verimsizleşmesine hatta yok olmasına yol açmıştır. Trakya bölgesi, Türkiye'nin tarım potansiyelinde önemli bir yere sahiptir. Bölgedeki tarım arazilerinde en çok ekilen ürünler ayçiçeği, çeltik ve buğdaydır (Çebi vd., 2019).

İnsanoğlu azalan tarım alanlarından ihtiyaçlarını karşılamak için bazı tarım kimyasallarını kullanmaya başlamıştır. Tarım alanlarında kullanılan pestisitlerle birlikte kentsel ve endüstriyel kirlilik biyoçeşitlilik için büyük bir risk haline gelmiştir ve bu kimyasalların gelişigüzel kullanımı nedeniyle dünya çapında artan bir endişeye neden olmuştur (Gibbons vd., 2015; Morrissey vd., 2015).

Tarımsal kimyasalların suda yaşayan organizmalar üzerindeki olumsuz etkilerini değerlendirmek için, su kirliliğinin izlenmesinde kimyasal ve fiziksel parametreleri biyolojik belirteçlerle tamamlama yönünde dünya çapında bir eğilim vardır (Jyothi & Narayan, 1999). Pestisitler biyobirikim özelliğine sahiptir ve suda yaşayan organizmaların dokularında biyobirikim yapar (Maurya & Malik, 2016). Su kirliliğinin yaklaşık %50'sinin tarımsal kaynaklı kirleticilerden ortaya çıktığı tahmin edilmektedir (Gavrilescu vd., 2015). Tarım alanlarından genellikle yağmur suyuyla su ekosistemine taşınan kimyasal kirleticilerin, besin zincirine dahil olması balıklar ve diğer hedef olmayan sucul türlerin akut ve kronik zehirlenmelerine yol açmaktadır. Sonuç olarak doğanın dengesini değiştirerek biyolojik çeşitliliğin azalmasına neden olurlar. Kimyasal kirleticilerin su ortamına girmesiyle ve besin zincirine dahil olmasıyla birlikte başta balıklar olmak üzere birçok canlı türü ciddi şekilde etkilenmektedir (Dar vd., 2016).

Pestisitlerin su ortamına püskürtülerek taşınması veya yağıştan sonra yüzey akışı yoluyla girebilmesi nedeniyle, pestisitlerin yoğunluk düzeyi, toksisitesi ve kalıcılığı, küçük miktarlarda kullanılsalar bile su ekosistemi üzerinde olumsuz etkiler oluşturur (Hladik vd., 2014; Tennekes & Sanchez-Bayo, 2011). Su ekosisteminde çok çeşitli çevresel kirleticiler bulunmaktadır. Pestisitler, su ortamında nadiren bireysel kimyasallar olarak ortaya çıkar ve genellikle nispeten düşük seviyelerde farklı maddelerin karışımları olarak bulunurlar (Nowell vd., 2014; Schreiner vd., 2016). Bununla birlikte, pestisitlerin toksik etkilerinin mevcut değerlendirmesi, ağırlıklı olarak tek maddelere dayanmaktadır (Jin vd., 2010; Mu vd., 2015; Shi vd., 2011; Tu vd., 2013). Bu nedenle, ortak etkiler bireysel etkilerin tahmin edilen toplamından farklı olduğundan, ekolojik uygunluk bu düzenleyici yaklaşımla hafife alınabilir (Bjergager vd., 2012; Brodeur vd., 2014; Hernández vd., 2013; Pérez vd., 2013).

Balıklar sudaki kirleticilerin varlığına karşı çok hassas olduklarından, farklı su ekosistemlerinin incelenmesinde biyoindikatör olarak kullanılabilirler. Diğer sucul biyoindikatörlerle karşılaştırıldığında, balıklar su trofiklerinin en üst sıralarında yer alırlar, bu nedenle tüm sucul ekosistemin entegre bir görüntüsünü sunarlar. Bu balıklar besin kaynağı olarak kullanıldığında insan sağlığı için bir risk oluştururlar (Abdel-Moneim vd., 2012). Balıklar, farklı vücut bölgelerinde çevreden toksik maddeler biriktirme yeteneğine sahiptir (İzah & Angaye, 2016).

En önemli su organizmalarından biri olan balıklar, besin ve enerji akışını yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya düzenleyerek sudaki besin ağlarında kritik rol oynarlar (Grung vd., 2015; Wang vd., 2013). Ek olarak, balıklar genellikle pestisitlere maruz kaldıklarından, insanların içme suyu kaynağı olarak hizmet eden suların kalitesi için oldukça önem arz etmektedir (Lammer vd., 2009; Tierney, 2016). Balık toksisite testi, pestisitlerin su ortamı üzerindeki olumsuz etkisini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (Moreira vd., 2010).

Hedef alanların kontaminasyonuna yol açan yoğun pestisit kullanımına ek olarak, gelişmekte olan ülkelerde geçerli olan kullanım uygulamaları noktasal olmayan kaynaklara yol açabilir. Havadan ilaçlamadan kaynaklanan sprey sürüklenmesi ve sulama ve tekrarlayan yağış olayları nedeniyle tarla kenarı akışı sonucunda yüzey sularının pestisit kontaminasyonu meydana gelmektedir (Schulz, 2004). Suda yaşayan omurgasızlar ve balıklar için nispeten yüksek toksisitelerinden dolayı, piretroid insektisitler , noktasal olmayan kaynaklar yoluyla su sistemlerine giren çeşitli pestisit türleri arasında öncelikli kirleticiler olarak kabul edilir (Coats vd., 1989; Smith & Stratton, 1986; Solomon vd., 2001).

Doğal ortamda, organizmalar genellikle tek bir kirleticiden ziyade kimyasal karışımlara maruz kalırlar. Sonuç olarak, su ortamında aynı anda bulunmaları toksisitede artışlara neden olabilir ve bu nedenle ekosistemler ve insan sağlığı üzerinde beklenenden daha büyük etkilere neden olabilir (Pérez vd., 2013). Türkiye tatlı sularında yaygın olarak bulunan Sivrisinek balığı *Gambusia holbrooki* (Girard, 1859), tarımsal kaynaklı pestisit kirliliğine maruz kalmaktadır. Bu çalışmada hastalık etmenleri ile mücadelede kullanılan strobilurin grubu olarak nitelendirilen azoxystrobinin *G. holbrooki* üzerindeki 96 saatlik akut toksisitesi ve LC₅₀ değerinin tespit edilmesi ile 100 günlük kronik toksik etkisinin belirlenmesi amaçlanmaktadır.

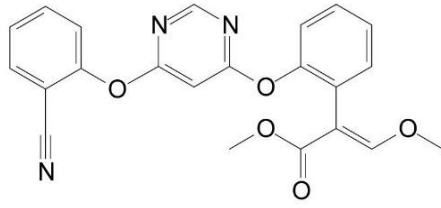
BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

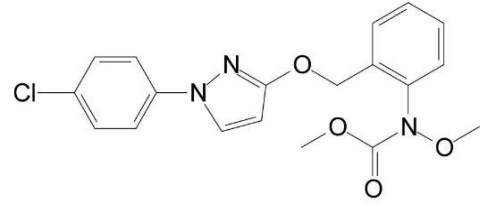
2.1. Strobilurin Fungisitlerine Genel Bakış

Strobilurinler tarımda küresel ölçekte uzun yıllardır yaygın olarak kullanılan popüler fungisitlerdir. Bu pestisitler fungus patojenlerini yönetmek için tasarlanmış olsa da, geniş spektrumlu etki biçimleri aynı zamanda hedef dışı etkileri de mevcuttur. Tarım kimyasalları olarak yaygın kullanımları nedeniyle organizmalarda olumsuz etkilere neden olabilecek konsantrasyonlarda su ortamlarına girebilirler.

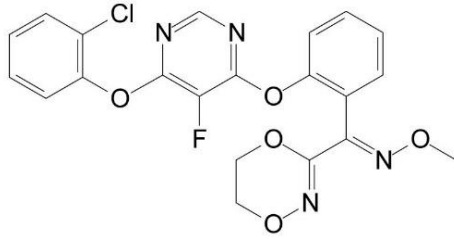
Strobilurin fungisitler dünya çapında beyaz küf, çürüme, erken ve geç yaprak lekesi, pas ve pirinç patlamasıyla mücadele etmek için kullanılmaktadır (Bartett vd., 2001). *Deuteromycota* ve *Basidiomycetes* strobilurinlerin doğal kaynaklarıdır ve ilk doğal strobilurin bileşiği olan Strobilurin-A, ilk olarak Anke ve arkadaşları tarafından *Strobilurus tenacellus* funguslarından izole edilmiştir (Anke vd., 1977). Strobilurin fungisitinin azoxystrobin ilk patenti 1996 yılında Alman pazarına sunulmuştur (Bartett vd., 2001; Sauter vd., 1999). Daha sonra azoxystrobin, piraklostrobin, fluoksastrobin, kresoksim-metil, trifloksistrobin, pikoksistrobin, mandestrobin ve metominostrobin dahil olmak üzere bir dizi strobilurin fungisiti geliştirilmiştir (Khandelwal vd., 2014; Rodrigues vd., 2013). Yapısal olarak toksiforik (E)- β -metoksiakrilat grubunun varlığı, Şekil 2.1.'de sunulduğu gibi strobilurin fungisitlerinin temel özelliğidir (Balba, 2007).



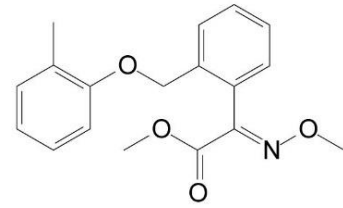
Azoxystrobin



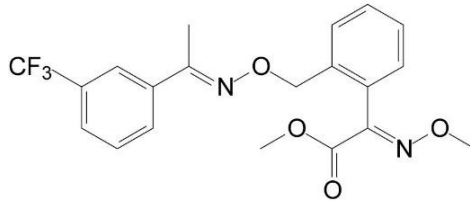
Pyraclostrobin



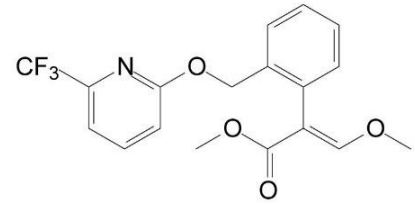
Fluoxastrobin



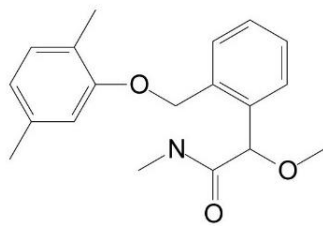
Kresoxim-methyl



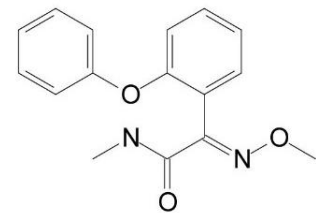
Trifloxystrobin



Picoxystrobin



Mandestrobin



Metominostrobin

Şekil 2.1. Strobilurinlerin moleküler yapıları (Wang vd., 2021).

Strobilurinler geniş spektrumlu, hızlı ve yüksek etkili antiseptik aktiviteler sunar, uygun maliyetlidir ve bitki metabolizması sırasında hızla parçalanır. Strobilurinlerin fungusitlerin bu avantajları geniş ölçekli kullanımına katkıda bulunmuştur (Wang vd., 2021).

Bununla birlikte, strobilurinlerin uzun süreli kullanımına bağılı olarak ortaya çıkan toksisite ve sağıık sorunları, çevresel kirlilik, dirence yol açma, ekosistem bozulması, besin zincirine etkisi ve çevresel kirlenme gibi ciddi halk sağıığı sorunlarına yol açmıştır (Wang vd., 2021).

Küresel gıda güvenliğinde vazgeçilmez bir rol oynayan strobilurin fungusitler, ağırlıklı olarak enerji üretimini, hücre bölünmesini, hücre biyosentezini inhibe ederek veya birden fazla bölgeye etki ederek bitkileri fungus enfeksiyonlarından korumak için kullanılır (Maltby vd., 2009). Spesifik olmayan etki modları nedeniyle (enerji üretimini ve hücre bölünmesini engellemek gibi), fungusitler hedef olmayan türlere zararlı olabilir (Zubrod vd., 2019).

Wang ve vd. (2021), su ortamında strobilurin fungusitlerinin tespiti, organizmaların maruz kalma risklerine sahip olduğunu ve genotoksisite, immünotoksisite, nörotoksisite, endokrin bozulması, gelişimsel toksisite ve üreme toksisitesi dahil olmak üzere potansiyel olumsuz etkiler sergilediğini göstermiştir (H. Wang vd., 2021). Ek olarak strobilurinin yaygın ve uzun süreli kullanımı oksidoredüktaz ve fosfataz aktivitesini inhibe etmiştir (Baćmaga vd., 2015). Organotrofik bakterilerin, aktinomisetlerin ve fungusların büyümesi strobilurinler tarafından engellenebilir ve mikrobiyal biyolojik çeşitlilikte değışikliklere neden olabilir (Baćmaga vd., 2015; X. Wang vd., 2020).

2.1.1. Strobilurinlerin Fizikokimyasal Dönüşümü

Strobilurin kalıntıları, saha uygulamalarından sonra havada, toprakta veya suda kalır ve ilgili ortamın fizikokimyasal özellikleri, bu kalıntıların davranışını ve dağılımını etkiler (Rodrigues vd., 2013). Pestisit toprağı ulaştığında organik veya mineral bileşenlerle etkileşime girer, kimyasal ve biyolojik dönüşüme uğrar (Bending vd., 2006).

Joseph (1999), üç farklı toprakta azoxystrobinin abiyotik bozunmasını araştırmış ve azoxystrobinin yarılanma ömründe ($t_{1/2}$) ışııkla bozunduğunu bildirmiştir. Tarla koşulları altında 14 günden az iken, azoxystrobinin yarı ömrü karanlık aerobik koşullar altında yaklaşık 8-12 haftadır. Çalışma aynı zamanda ester kısmının hidrolizinin azoxystrobinin ana metabolik yolu olduğunu da ortaya çıkarmıştır (Joseph, 1999).

Boudina ve vd. (2007), Azoxystrobinin sulu çözeltilerdeki fotokimyasal davranışını incelemiş ve fototransformasyonu sırasında çok sayıda paralel reaksiyon yolunun meydana geldiğini ortaya çıkarmıştır (Boudina vd., 2007).

Azoxystrobinin sulu ortamlarda daha yüksek dalga boylarındaki (290 nm) ışığı emdiğini ve bunun da fotodegradasyonu kolaylaştırdığını göstermiştir (Singh vd., 2010). pH 4, 7 ve 9'da sulu koşullar altında C-azoxystrobinin metabolizmasını araştırmış ve R234886 metabolitini (E)-2-{2-[6-(2-siyano-fenoksi) pirimidin- olarak tanımlamıştır. Asidik (pH 4) veya nötr (pH 7) koşullarla karşılaştırıldığında, metabolit oluşumu daha büyük miktarlarda ve alkali (pH 9) koşullar altında nispeten daha hızlı meydana gelmiştir. (Chastain vd., 2013).

2.1.2. Strobilurinlerin Ekotoksitesitesi

Strobilurinlerin aşırı ve uzun süreli kullanımı ekosistemleri olumsuz etkilemiştir. Hidrolitik olarak stabil azoxystrobin, pH 4 ila 9 arasındaki değerlerinde düşük çözünürlük sunar (20°C'de 6,7 mg/L), bu da su kalitesine yönelik potansiyel riskini gösterir (Deb vd., 2010; EFSA, 2010; Singh vd., 2010). Birçok araştırmacı, azoxystrobinin yalnızca hedef funguslar için değil aynı zamanda hedef olmayan organizmalar için de toksik olduğunu keşfetmiştir (Friberg-Jensen vd., 2010).

Bony ve vd. (2008), Azoxystrobinin yumurta taşıyan *Daphnia magna*'nın farklı fizyolojik parametreleri üzerindeki ölümcül olmayan toksisitesini araştırdı (kalp, filtreleyen uzuvlar, alt çeneler ve fokal omurga gibi). 24 saatlik aktiviteden sonra, 0,500 mg/L azoxystrobin konsantrasyonunda fokal omurga dışındaki tüm yanıt parametrelerinin azaldığı sonucuna vardılar (Bony vd., 2008).

Bacmaga ve vd. (2015), Azoxystrobinin topraktaki biyolojik aktivite üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi, bunun organotrofik bakteriler, aktinomisetler ve fungusların büyümesini engelleyerek mikrobiyal biyolojik çeşitliliği değiştirdiğini ortaya çıkarmıştır (Baćmaga vd., 2015).

Strobilurinlerin bir zamanlar memeliler için daha az toksik olduğu düşünülüyordu (Bartlett vd., 2002) ancak bazı araştırmacılar, fungusitlerin toksikolojik son noktalarındaki boşluklar nedeniyle toksisitelerine ilişkin bilimsel yorumların sınırlı olduğunu vurgulamıştır (Battaglin vd., 2011).

Kresoksim-metil ve piraklostrobinin fare kortikal nöronlarının birincil kültürüne karşı toksisitesi rapor edilmiştir (Regueiro vd., 2015). İn vitro çalışmalar, piraklostrobinin insan periferik kan lenfositlerine yönelik genotoksitesini ve sitotoksitesini doğrulamıştır (Çayır vd., 2014). Tüm bu çalışmalar, strobilurinlerin organizmalar üzerindeki toksisitesinin çeşitli yollardan meydana geldiğini ileri sürmektedir.

2.1.3. Strobilurin Fungisitlerinin Balık Türlerinde Toksik Etkileri

Strobilurin kaynaklı mitokondriyal disfonksiyon, büyüme ve davranış gibi çeşitli apikal uç noktalarla ilişkilendirilmiştir. Strobilurinler balık larvalarında vücut uzunluğunun azalmasına, balığın hareketinin azalmasına, kısmen mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna ve bozulmuş oksidatif solunum bozulmasına neden olmuştur. (Cao vd., 2019, Gao vd., 2014). Hücrel enerji üretimi azaldığında, enerji tasarrufu sağlamak amacıyla genel metabolizma hızında bir azalma gerçekleşir. Bu azalan metabolizma, büyümeyi olumsuz etkileyebilir, aktiviteyi kısıtlayabilir ve enerji harcamasını en aza indirebilir (Jimenez vd., 2014). Mitokondriyal fonksiyon bozukluğu, balık larvalarında kardiyotoksikite ve nörotoksikite ile ilişkilendirilmiştir. Kardiyomiyositler ve nöronlar, yüksek enerji ihtiyacına sahip olan bu iki bölgelerdir ve mitokondriyal hasara karşı savunmasızdır (Golpich vd., 2017).

Örneğin piraklostrobin, larva kalbinin mitokondriyal fonksiyonunu ve enerji metabolizmasını bozar ve kalp atışlarının inhibisyonu, aritmi , azalmış ventriküler diyastol sonu hacmi, sistol sonu hacmi ve atım hacmi dahil olmak üzere kalp fonksiyon bozukluklarını indüklemiştir. Bu fungusit aynı zamanda larva beyin hücrelerindeki mitokondriyal yapıyı da bozarak nöronlarda yetersiz adenosin trifosfat (ATP) seviyelerine, sinir sistemindeki enerji metabolizması ve sinaptik etkinliğin bozulmasına, balık larvalarının beyin dokusunun ve lokomotor davranışlarının bozulmasına neden olmuştur (Li vd., 2019).

Zebra balığındaki piraoksistrobinin, elektron taşıma zincirini (ETC) inhibe ederek kardiyomiyositlerin enerji üretimine etki ettiği ve bunun da kalp fonksiyon bozukluğuna neden olduğu rapor edilmiştir (Li vd., 2018).

Genel olarak, strobilurinler balıklardaki mitokondriyal fonksiyonu bozar; bu, kardiyotoksisite, nörotoksisite ile ilişkilendirilebilen önemli bir olaydır, erken gelişim sırasında genel uygunluğu (örneğin büyüme) ve performansı (örneğin davranış) azaltır (Du vd., 2018; Pinho vd., 2013; Souders vd., 2018).

2.1.4. Strobilurin Fungisitlerinin Balık Türleri Üzerindeki Akut Toksisitesi

Suda yaşayan organizmaların erken yaşam evreleri genellikle çevredeki kimyasal maddelere maruz kalmaya karşı hassastır. Balık türlerinde strobilurinin neden olduğu toksisiteye ilişkin en eksiksiz veri, yaygın olarak kullanılan zebra balığı (*Danio rerio*) modelinden türetilmiştir. Bu model, hızlı gelişimi ve kimyasal kaynaklı malformasyonların iyi tanımlanması nedeniyle kimyasal testler için avantajlıdır.

Çalışmalarda bildirilen LC₅₀'ye dayanarak, strobilurin fungisitleri, <0,1 ila 1 mg/L arasında değişen değerler nedeniyle balık türleri için yüksek veya orta derecede toksik olarak sınıflandırılabilir (Zubrod vd., 2019).

Döllenmeden 3 saat sonra, döllenmeden 3 gün sonra, döllenmeden 1 ay sonra ve 3 ay sonra embriyoları, larvaları, gençleri ve yetişkinleri kapsayan farklı yaşam evrelerindeki zebra balığı için akut toksisiteyi ölçen çeşitli çalışmalar vardır. Bu çalışmalara göre, larvalardaki ölüm oranları diğer yaşam evreleriyle karşılaştırıldığında en yüksek düzeyde görünmektedir. Genel olarak zebra balığının farklı yaşam evrelerinin toksisite sıralaması ve hassasiyeti genel olarak larva > genç > embriyo/yetişkin şeklindedir. Ancak çalışmalar arasında bazı farklılıklar vardır (Jia vd., 2018; Li vd., 2018b; Wang, Dai, vd., 2018).

Yaşam evresi hassasiyetindeki farklılıklar potansiyel olarak embriyolardaki koryonun koruyucu etkilerinden kaynaklanmaktadır ve yetişkin zebra balığının daha sağlam ve yerleşik bir antioksidan savunma sistemine sahip olmasının beklenmesi, bu da onları daha az hassas hale getirmektedir.

Zebra balığının model olarak alınmasına yönelik eleştirilerden biri, çevresel ilgi eksikliğidir. Bu eksikliği gidermek amacıyla çalışmalar, su ortamlarında ekolojik olarak ilgili balık türleri (*Ctenopharyngodon idella*, *Gobiocypris rarus* ve *Oncorhynchus mykiss*) için akut toksisite analizleri gerçekleştirmiştir.

G. rarus embriyosu, *C. idella* juvenile ve *O. mykiss* yetişkin gibi balıklar, zebra balığı türlerine göre daha hassas görünmektedir. Örneğın, trifloksistrobinin 1 haftalık *G. Rarus*'a karşı 144 saatlik LC₅₀ değeri 0,111 mg/L idi ve 0,009 mg/L 'de ölüm oranında önemli bir artış vardı (Zhu vd., 2015a). 48 saatlik LC₅₀ azoxystrobin, kresoksım-metil ve trifloksistrobinin *juvenil C. İdella*'ya oranı sırasıyla 0,549, 0,338 ve 0,051 mg/L idi (Liu vd., 2013). Piraklostrobinin 96 saatlik LC₅₀'si yetişkin gökkuşağı alabalığında 0,006 mg/L kadar düşüktü (Zhang vd., 2012).

2.1.5. Balıklarda Strobilurin Maruziyetini Takiben Nörotoksisite ve Davranışsal Etkileri

Mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ve azalan ATP sentezi, organizmaların bozulmuş lokomotor aktivitesiyle de ilişkilendirilebilir (Cao vd., 2018b; Kumar vd., 2020). Bazı çalışmalar balıklarda azoxystrobin, piraklostrobin ve trifloksistrobin maruziyetiyle ilgili davranışsal etkileri araştırmıştır (Kumar vd., 2020; Li vd., 2019; X. Wang vd., 2021; Zhu vd., 2015). Laboratuvarımızda, dört strobilurine maruz kaldıktan sonra 6 gün sonra zebra balığını değerlendirmek için görsel motor tepki testi kullanılmıştır. Değışen lokomotor aktivite, nörolojik bozukluklarla ilişkili önemli bir davranışsal etki olarak kabul edilir (Altenhofen vd., 2017; Wang vd., 2018c).

Çeşitli çalışmalar ayrıca balıkların lokomotor davranışlarının kısmen iskelet kaslarındaki ve merkezi sinir sistemindeki mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ile açıklanabileceğini öne sürmektedir (Cao vd., 2018b; Kumar vd., 2020; Li vd., 2019; Wang vd., 2018b). Pek çok pestisit, erken aşamadaki zebra balığında hem mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna hem de hipoaktiviteye neden olmuştur; örneğın esfenvalerat ve fluazinam, zebra balığının kat ettiğı mesafeyi azaltmıştır (Wang, Wu, vd., 2018). Piraklostrobin ve trifloksistrobin, balıklarda hipoaktiviteyi indükler, ATP üretimini etkiler, mitokondri ile ilgili genlerin aktivitelerini ve ekspresyon seviyelerini değıştirir. Bu veriler, bozulmuş mitokondriyal biyoenerjetığın zebra balığı larvalarının hipoaktif davranışlarıyla bağlantılı olabileceğı hipotezini güçlendirmektedir, ancak iskelet sistemindeki kusurlar göz ardı edilememektedir.

Balıklarda yapılan diğeri çalışmalarda, strobilurinin neden olduğı nörotoksisite incelenmiştir (Zhu vd., 2015).

G. rarus'a düşük konsantrasyonlarda 0,001, 0,005 ve 0,001 mg/L trifloksistrobin uygulamış ve sonuçlar, balıkların kontrol grubundaki balıklara göre daha hızlı yüzdüğünü göstermiştir. Bu çalışmada trifloksistrobinin nörotoksik etkileri araştırılmamış olmasına rağmen hiperaktivitenin nörotoksitenin bir göstergesi olduğu varsayılmıştır. Sınırlı sayıda ve giderek artan sayıda çalışmaya dayanarak, piraklostrobinin diğer strobilurinelere kıyasla balık davranışları üzerinde daha büyük etki gösterdiği görülmektedir (Kumar vd., 2020; Li vd., 2019).

Gelişim aşamaları sırasındaki hipoaktivite, yiyecek arama ve yırtıcılardan kaçınma gibi ekolojik açıdan önemli bazı karmaşık son noktalara katkıda bulunabilir (Fernandes vd., 2012; Mueller & Neuhauss, 2012; Sloman & McNeil, 2012). Birlikte ele alındığında, strobilurinler balıklardaki davranışları etkiler ve lokomotor aktiviteyi araştıran çok sayıda araştırma yapılmış olmasına rağmen, balıklarda kaygı, avcı-av etkileşimi veya hafıza ile ilgili son noktalar hakkında rapor veren hiçbir veri yoktur. Bunun gibi çalışmalar, ilerleyen süreçte nöral disfonksiyonun sonuçlarını anlamak için önemli olacaktır.

2.1.6. Strobilurin Fungisitlerinin Tatlısu Balıkları Üzerindeki Kronik Toksik Etkileri

Azoxystrobin gibi strobilurin fungisitleri tatlısu balıklarında kronik toksisite etkilere yol açabilir. Bu kimyasalın uzun süre maruz kalındığında, balıklarda aşağıdaki kronik toksisite etkilere neden olabilir:

1. Solunum Sorunları: Strobilurin fungisitlerinin solunması veya suyla temas etmesi durumunda, balıklarda solunum sorunlarına yol açabilir. Solungaçlarda tahrişe neden olabilir ve bu da balıkların oksijen alışverişini zorlaştırabilir (Mueller & Neuhauss, 2012).

2. Büyüme ve Gelişme Sorunları: Azoxystrobin ve benzeri kimyasalların kronik maruziyeti, balıkların büyüme ve gelişmelerini olumsuz etkileyebilir. Bu, balıkların boyutlarının normalden küçük kalmasına veya gelişme geriliğine neden olabilir (Balba, 2007).

3. **Üreme Sorunları:** Strobilurin fungusitlerinin balıklar üzerinde uzun vadeli etkileri arasında üreme sorunları da bulunabilir. Bu kimyasallar, balıkların üreme organlarına zarar verebilir ve üreme kabiliyetlerini azaltabilir (Cao vd., 2016).

4. **Davranış Değişiklikleri:** Kimyasallara maruz kalan balıkların davranışlarında değişiklikler gözlemlenebilir. Bu, balıkların normal yem alma davranışlarından sapmalar, yavaşlama veya hareketlerinde anormallikler şeklinde ortaya çıkabilir (Nwani vd., 2013).

5. **Karaciğer ve Böbrek Hasarı:** Strobilurin fungusitlerinin uzun süre maruziyeti, balıkların karaciğer ve böbreklerine zarar verebilir. Bu organlarda hasar, metabolizma ve atık ürünlerin atılması üzerinde olumsuz etkilere yol açabilir (Pandey & Rathore, 2023).

Tatlısu balıklarının bu tür kimyasallara maruz kalmasını önlemek için sucul çevrelerin ve sulama suyunun sıkı bir şekilde kontrol edilmesi gerekmektedir. Ayrıca, bu tür kimyasalların kullanımı sırasında doğru güvenlik önlemlerinin alınması ve çevresel etkilerin düzenli olarak izlenmesi önemlidir.

2.2. Azoxystrobin

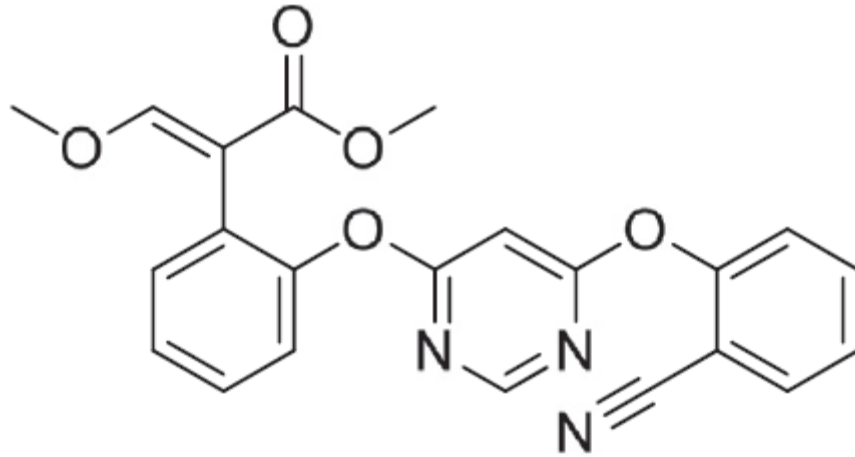
Çizelge 2.1. Azoxystrobin ile ilgili genel bilgiler.

Aktif Madde (ISO Ortak Adı)	Azoxystrobin
Etki	Fungisit
Kimyasal Grup	Strobilurin
Bileşik Kökeni	Sentetik
IUPAC Adı	methyl (2E)-2-{2-[6-(2-cyanophenoxy) pyrimidin-4-yloxy] phenyl } -3-methoxyacrylate
CIPAC Numarası	571
CAS Numarası	131860-33-8
Moleküler Formülü	C ₂₂ H ₁₇ N ₃ O ₅
Moleküler Kütle [g / mol]	403,4
Bileşik Özelliği	Polar
Çözünürlük	Asetonitril ve Suda, 20 °C’de 6 mg/L.

Azoxystrobin, metil (E)-2-{2[6-(2-siyanofenoksi)pirimidin-4-iloksi]fenil}-3-metoksiakrilat (IUPAC) ve metil (E)-2-{[için ISO onaylı addır. 6-(2-siyanofenoksi)-4-pirimidinil]oksi}-a-(metoksimetilen) benzeneasetat (9CI) (CA).

Bu karboksilik asit metil ester, $C_{22}H_{17}N_3O_5$ moleküler formülüne ve 403,4 g/mol moleküler kütlesine sahiptir (Çizelge 2.1). CIPAC ve CAS kayıt numaraları sırasıyla 571 ve 131860-33-8'dir. ABD EPA (Çevre Koruma Ajansı) kimyasal kodu 128810'dur. Azoxystrobin, doğal olarak oluşan strobilurinlerin metil β -metoksiakrilat grubunu korur (Bartlett vd., 2002). Azoxystrobin molekülü ayrıca üç aromatik halkadan oluşan büyük bir hidrofobik kısma sahiptir (Şekil 2.2.); bir siyanofenil halkası, bir pirimidinil halkası ve bir fenilakrilat halkası. Ancak orta derecede polar bir bileşik olarak kabul edilir (Smalling & Kuivila, 2008). 20 °C'de azoxystrobinin sudaki çözünürlüğü 6,7 mg/L (pH 5,2 ve 7,0) ve 5,9 mg/L (pH 9,2), organik çözücülerde ise heksan için 0,057 g/L, 1,4 g'dır.

Oktan-1-ol için L^{-1} , Metanol için 20 g/L, toluen için 55 g/L, aseton için 86 g/L, etil asetat için 130 g/L, asetonitril için 340 g/L ve diklorometan için 400 g/L (Commission, 1998). Azoxystrobin bir stereoizomere sahip olabilir ancak aktif maddesi E formudur.



Şekil 2.2. Azoxystrobin Kimyasal Yapı Gösterimi.

Azoxystrobin çeşitli fonksiyonel gruplara sahip olduğundan, çok sayıda metabolitin oluşumuyla karmaşık metabolik yollara sahip olduğu düşünülmektedir (Parra vd., 2012).

Örneğin asit ve enol türevleri ve azoxystrobin Z -izomeri gibi azoxystrobinin ana metabolitleri olarak geniş çapta tanınan parçalanma bileşiklerinin sentezini ve tam spektroskopik karakterizasyonunu sunmuştur .

Ayrıca, bilgisayar tahminleri ve yüksek çözünürlüklü kütle spektrometrisi kullanılarak doğal su ortamlarında azoxystrobinin potansiyel dönüşüm ürünlerini taramıştır ve bir ester hidroliz ürününün (Azoxystrobin asit veya R234886 olarak da bilinir) bulunan ana metabolit olduğu sonucuna varmıştır (Kern vd., 2009). Aynı şekilde sudaki ¹⁴ C-Azoxystrobinin ana ürünü olarak R234886'yı tespit etmiştir. Dolayısıyla R234886, ayrıca (E)-2-{2-[6-(2-siyano-fenoksi) pirimidin-4-iloksi] fenil}-3-metoksiakrilik asit, esterin hidrolizi yoluyla azoxystrobinden oluşturulabilir (Singh vd., 2010). grup veya oksidatif de-alkilasyon yoluyla ve tarafından orta derecede çözünür (20 °C'de 57 mg/L) olarak kabul edilir .

Ayrıca fenyakrilat halkası ile pirimidinil halkası arasındaki eter bağlantısının bölünmesinin bir ürünü olan 4-(2-siyanofenoksi)-6-hidroksipirimidin (R401553) ve 2-[6-(2-siyanofenoksi)pirimidin-4-'ü tanımladı. Azoxystrobinin çevreyle ilgili metabolitleri olarak yloksi]benzoik asit (R402173) azoxystrobinin sulu fotokimyasal davranışını inceledi ve sonuçlar, suda fototransformasyonun, foto-izomerizasyon, metil ester ve nitril grubunun foto-hidrolizi, akrilat çift bağın bölünmesi, fenol ile sonuçlanan aromatik halka arasındaki bölünme ve akrilat çift bağının oksidatif bölünmesi fotohidrolitik eter dahil olmak üzere çoklu, paralel reaksiyon yolları yoluyla ilerlediğini göstermiştir (Boudina vd., 2007). Bu çalışma aynı zamanda sulu çözeltideki azoxystrobinin 290 nm'den daha yüksek dalga boylarındaki ışığı emdiği ve bu nedenle ortamda ışıkla bozunabileceği sonucuna varmıştır. Ayrıca (Z)-metil 2-{2-[6-(2-siyanofenoksi) pirimidin-4-iloksi]fenil}-3-metoksiakrilik asit (Z olarak da adlandırılır-izomer veya R230310), yine ultraviyole (UV) ışınlama altında fotokimyasal dönüşümün ana metaboliti olarak tanımlandı; ışınlamanın hemen ardından meydana gelen çok hızlı bir reaksiyon olan foto-izomerizasyondur.

Azoxystrobin insanlar, kuşlar, memeliler ve arılar için düşük akut ve kronik toksisiteye sahiptir ancak tatlı su balıkları, tatlı su omurgasızları ve nehir ağzı/deniz balıkları için oldukça toksiktir ve nehir ağzı/deniz omurgasızları için çok yüksek derecede toksiktir (Rodrigues vd., 2013).

Hem toprakta hem de sudaki azoxystrobinin ana metaboliti olan (E)-2-(2-[6-siyanofenoksi)-pirimidin-4-iloksil]-fenil-3-metoksiakrilik asidin suda yaşayan organizmalar için düşük toksisiteye sahip olduğu gösterilmiştir.

Gökkuşığı alabalığı, mavi solungaç güneş balığı ve koyun balığı gibi balıklar üzerindeki toksisitesinden dolayı azoxystrobin, teleostlar için çok yüksek düzeyde toksik olarak sınıflandırılmıştır (Rodrigues vd., 2013). Su kütlelerinde azoxystrobin, çökeltiyeye adsorpsiyon ve ardından mikrobiyal bozunma nedeniyle sonunda kullanılamaz hale gelir. Düşük uygulama oranlarıyla birlikte bu faktörler, su ortamında hedef olmayan türlere maruz kalmanın genel olarak düşük olduğunun kabul edildiği anlamına gelir.

2.3. *Gambusia* sp. (Sivrisinek Balığı)

Çizelge 2.2. *Gambusia*'nın bilimsel sınıflandırması (Froese, 2005).

Kingdom	<i>Animalia</i>
Phylum	<i>Chordata</i> (Kordalılar)
Classis	<i>Teleostei</i> (Gerçek Kemikli Balıklar)
Ordo	<i>Cyprinodontiformes</i> (Dişli Sazancıklar, Canlı Doğuranlar)
Familia	<i>Poeciliidae</i> (Lebistesgiller)
Subfamilia	<i>Poeciliinae</i>
Genus	<i>Gambusia</i> (Sivrisinek Balığı) (Poey, 1854)

Sivrisinek balıkları, *Cyprinodontiformes* (Dişli sazancıklar) takımına ait *Poeciliidae* familyasına üye bir balık türüdür (Çizelge 2.2). Bu familya, sivrisinek balıklarını içeren birçok tanınmış balık türünü içerir, örneğin lepistes, pilati, moli ve kılıçkuyruk gibi. *Gambusia* cinsi, doğal olarak Kuzey Amerika'da bulunur ve bu bölgede yaygın olarak dağılmıştır (Lloyd & Tomasov, 1985) ve bu bölgede 45 farklı türü temsil eden cins üyelerinden bazıları dünya genelinde yaygın olarak bulunmaktadır (Froese, 2005).

Genus içinde, dünya çapında en çok tanınan türler, "sivrisinek balıkları" olarak bilinen *Gambusia* cinsine aittir. *Gambusia affinis* ve *Gambusia holbrooki* türleri, bu cinse dahil olan 45 türden bazılarını temsil etmektedir.

Bu türler, dünya çapında yaygın olarak bulunmaktadır ve *Gambusia* cinsinin içinde en geniş dağılıma sahip olan türlerdir, bu nedenle sıklıkla "sivrisinek balıklar" olarak adlandırılırlar (Froese, 2005; Kurtul & Sarı, 2017).

2.3.1. *Gambusia sp.*' nin Morfolojisi

Doğu sivrisinek balıkları (*Gambusia affinis*), genellikle 1 ila 5 cm arasında değişen bir boyuta sahip olup, nadiren 8 cm'ye kadar büyüyebilirler. Bu balıklar genellikle gümüş rengine sahiptirler, bazen yeşilimsi bir tonla karışık olarak görülebilirler ve üzerlerinde dağınık gri ve siyah lekeler bulunabilir (Şekil 2.3).

Tek bir sırt yüzgeci, çok sayıda dikenli ışın ve geniş yuvarlak kuyruk yüzgeçleri mevcuttur (Çetinkaya, 2006; Vondracek vd., 1988). Yüzgeçler üzerinde siyah lekeler bulunmaktadır. Erkeklerin anal yüzgeci, sperm transferi için kullanılan bir gonopodyum adı verilen uzun, ince bir organa dönüşmüştür. Vücutları, geniş ve düzleştirilmiş bir baş ile hafifçe üstten basık bir şekle sahiptir. Gözleri büyük, ağızları küçük ve terminal konumdadır. Dişiler, erkeklere göre daha büyük bir boyuta sahiptirler (Lloyd, 1987).



Şekil 2.3. Dişi (büyük olan) ve erkek (küçük olan) *Gambusia holbrooki* (Yoğurtçuoğlu, 2016).

2.3.2. *Gambusia sp.*' nin Üremesi, Büyümesi ve Gelişimi

Gambusia türleri, geniş bir üreme dönemine sahiptir ve yıllık üreme döngülerini ilkbahar ve sonbaharın ortalarına kadar sürdürebilirler.

Spermatozoa (sperm hücreleri), spermatogenez (sperm oluşumu süreci) boyunca neredeyse sürekli olarak testislerden salınır. Kuluçka süresi genellikle 22-25 gün arasında değişir, ancak bu süre su sıcaklığı, mevsim ve coğrafi bölgeye bağlı olarak 15 ila 50 gün arasında değişebilir (Vargısı & De Sostoa, 1996). *Gambusia* dişileri her 3-4 haftada bir üreme yeteneğine sahiptirler. Erkeklerde cinsel olgunluk, gonopodyum yaklaşık 17-20 mm'lik bir uzunluğa eriştiğinde oluşmaktadır (Trendall, 1982).

Dişilerde üreme, genellikle yaklaşık 17-20 mm uzunluğa ulaşıldığında meydana gelir. Olgun olmayan erkek ve dişi bireylerden yetişkin erkek ve dişiler, dış görünüşleriyle ayrılabilir. Tamamen gelişmiş gonopodyuma sahip erkekler, olgun olarak kabul edilirler (Meffe, 1992). Dişilerde ise olgunluk belirtisi olarak kabul edilen şey, gonoduktun üzerinde vücudun yan tarafında bulunan siyah ve koyu peritoneal bir lekenin varlığıdır (Howell vd., 1980). Ancak bazı durumlarda, üreme dönemindeki bir dişinin karın kısmında, yaklaşık 1 mm çapında yumurtalar görülebilir (Stearns, 1983). Yumurtalar ilk oluştuklarında yaklaşık 0.2 ila 1.0 mm çapındadır, olgunlaştıkça yaklaşık 1.4 ila 1.8 mm çapına ulaşırlar. Embriolar başlangıçta yaklaşık 2.2 mm çapına sahiptirler. Yumurtadan çıkan larvalar ise genellikle 6-8 mm uzunluğundadır (Vargas & De Sostoa, 1996).

Gambusia'nın büyümesi ve gelişimi üç farklı aşamada incelenebilir. İlk aşama, kuluçka evresi olarak adlandırılır ve bu aşama, yumurtanın döllenmesinden doğdukları an kadar olan yumurta ve embriyo gelişimini içerir. İkinci aşama, olgunlaşmamış bireylerin bulunduğu dönemdir, ve son aşamada ise bireyler yetişkinliğe ulaşır. Bu aşamaların süresi, bireyler arasında ve yıl içindeki mevsimlere bağlı olarak önemli varyasyonlar gösterebilir. Yapılan araştırmalarda, 25 °C sıcaklık ve 5 ppt (binde bir) tuzluluk seviyesinin *Gambusia* için en uygun gelişme koşullarını sağladığı rapor edilmiştir (Meffe & Snelson, 1989).

2.3.3. *Gambusia sp.*'nin Beslenmesi

Bu balıklar genellikle bentopelajik bir yaşam tarzı sürdürürler ve besin olarak zooplankton, küçük böcekler ve diğer balıkların yumurta ve larvalarını tüketirler (Geldiay & Balık, 2009). Küçük karasal böcekler de onların besin kaynağıdır ve bu balıklar küçük yiyecekleri aktif bir şekilde seçebilirler (Çetinkaya, 2006).

Yapılan bir araştırmada, *G. holbrooki*'nin mide içeriği ve sindirim kanalında *Diptera* (%29.40 *Chironomidae* (pupa)- %24.50 *Diptera* (ergin), yumurta (%14.70 sivrisinek- %1.96 farklı canlılar), kabuklular (%9.80 *kopepod*- %3.92 *kladosera*), %4.90 *koleoptera*, %1.96 *Hemiptera* ve çeşitli balıklar (%3.92 *G. holbrooki*) bulunduğu tespit edilmiştir (Erguden, 2013). Bunun yanı sıra, %1.96 *Hymenoptera*, %0.98 *Tricoptera*, %0.98 *Plecoptera* ve %0.98 *Formicidae* gibi diğer besin kaynakları da belirlenmiştir.

2.3.4. *Gambusia sp.*'nin Biyolojik Mücadeledeki Yeri ve Türkiye' deki Durumu

Ekosistemin işleyişine, diğer canlılara, insan sağlığına ve ekonomik kaynaklara zarar veren organizmaların doğal düşmanlarının kullanılarak kontrol edilmesi işlemine biyolojik mücadele denir (Kurtul & Sarı, 2017).

Türkiye iç sularında biyolojik mücadele amacıyla *Gambusia* türlerinin kullanımı, ilk kez Fransızlar tarafından, sivrisineklerle mücadele etmek için Amik Gölü'ne yerleştirilmeleriyle başlamıştır (Geldiay & Balık, 1999; İnnal & Erk'akan, 2006). Ancak, bu balıklar sadece sivrisineklerle mücadele etmekle kalmaz, aynı zamanda çevrelerindeki sucul organizmaları da avlarlar, çünkü karnivor bir türdürler (Erguden, 2013).

Türkiye'de dağılım gösteren 35 farklı tür için yapılan bir risk tarama çalışması (FISK: Fish Invasiveness Screening Kit) sonucunda, *Gambusia affinis* ve *Gambusia holbrooki* türlerinin yüksek risk skorlarına sahip olduğu belirlenmiştir (Tarkan vd., 2014). Bu durum, Türkiye'deki endemik tatlısu balık türlerinin çoğunun dar endemik olduğu ve *Gambusia* türlerinin bu endemik türleri tehdit ettiği anlamına gelmektedir (Kurtul & Sarı, 2017).

Gambusia holbrooki, iç sularımızda yaygın olarak bulunsa da, Türkiye'nin Su Ürünleri Kanunu ve Su Ürünleri Yönetmeliği uyarınca ekolojik açıdan zararlı bir balık olarak sınıflandırılmıştır.

Bu nedenle, sivrisineklerle biyolojik mücadele amacıyla kullanılan bu balık türünün, bırakıldığı sularda bazı balık türlerinin yumurtalarını yediği ve zararlı olabileceği ifade edilmiştir. Ayrıca, bu türün yerleştiği habitatlardan temizlenmesinin zor olduğu vurgulanmıştır (Kurtul & Sarı, 2017).

Biyolojik mücadele aracı olarak düşünülen, ancak ekolojik olarak "istilacı tür" olarak kabul edilen bu balık, Trakya bölgesinde yaygın olarak bulunmaktadır (Güner, 2009, 2010, 2012a, 2012b, 2016).

Bu istilacı türün yayılım alanlarını sınırlamak ve biyoçeşitliliği korumak için olası kirlilik kaynaklarına karşı nasıl tepki vereceği konusunda daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

2.4. Strobilurin Fungisitlerinin Akuatik Ortamda Toksisitesi

Akuatik ortamlara karışan pekçok kimyasal, doğrudan suda yaşayan canlıları tehdit etmekte, dolaylı olarak insan olmak üzere diğer canlıları da olumsuz etkilemektedir. Bu etkileri ortaya koymak, değerlendirmek için toksisite testleri yapılmaktadır (Kankaya & Kaptaner, 2017).

Strobilurin grubu fungusitler tatlısu ekosistemlerinde balıklar üzerinde toksik etkilere neden olabilir. Bu etkiler, fungusitin türüne, konsantrasyonuna, maruz kalma süresine, sucul organizmanın türüne ve yaşına, sucul ortamın özelliklerine ve diğer faktörlere bağlı olarak değişebilir (Casida & Durkin, 2017).

Ölüm: Yüksek fungusit konsantrasyonları, doğrudan balıkların ölümüne neden olabilir. Fungisitler, balıkların solungaçlarından oksijen alımını engelleyebilir veya sinir sistemine zarar verebilir, bu da balıkların ölümüne yol açar (Nowell vd., 2014).

Solunum Sorunları: Fungisit maruziyeti, balıkların solunum sistemine zarar verebilir ve solunum zorluklarına neden olabilir (Nowell vd., 2014).

Büyüme ve Üreme Sorunları: Fungisitler, balıkların büyümesini olumsuz etkileyebilir ve üreme yeteneklerini azaltabilir. Bu, balık popülasyonlarının uzun vadeli sürdürülebilirliğini etkileyebilir (Nowell vd., 2014).

Davranış Değişiklikleri: Fungisitlere maruz kalan balıkların davranışları değişebilir. Örneğin, belirli fungusitlere karşı hassas olan balıklar sucul ortamda daha fazla saklanabilir veya daha az beslenme aktivitesi gösterebilir (Halappa & David, 2009; Nwani vd., 2013).

Biyoakümülyasyon: Bazı fungusitler vücutta birikme eğilimindedir. Bu, balıkların zamanla yüksek fungusit seviyelerine maruz kalmasına neden olabilir (Rodrigues vd., 2013). Bu durum, besin zinciri boyunca yukarıya doğru hareket edebilir ve avcı balıkların fungusitlere daha fazla maruz kalmasına yol açabilir (Wing vd., 2000).

Habitat Kaybı: Fungisitler sucul habitatlarda bitki örtüsünün ve sucul organizmaların ölümüne neden olabilir. Bu, balıkların yaşam alanlarının azalmasına ve beslenme kaynaklarının kaybına yol açabilir (Wing vd., 2000).

Fungisitler kullanımının düzenlenmesi ve kontrol edilmesi, tatlısu ekosistemlerdeki balıkların korunmasına yardımcı olabilir. Ayrıca, fungusit kullanımının sınırlanması, alternatif fungusit olmayan tarım uygulamalarının teşvik edilmesi ve su kalitesinin izlenmesi ve korunması da önemlidir. Fungisitlerin sıkı bir şekilde yönetilmesi, sucul ekosistemlerde balıklar ve diğer sucul organizmalar için daha sağlıklı bir yaşam ortamı sağlayabilir (Schlenk vd., 2008).

Çevresel kimyasallara subletal maruz kalma, hücrelerin histolojik yapılarındaki değişimler ile doku ve organların fonksiyonlarını önemli ölçüde değiştirebilen patolojik oluşumlarla sonuçlanabilir. Histopatoloji, her bir organizmanın doku ve organlarında maruziyetin hem akut hem de kronik ters etkilerinin belirlenmesini sağlar (Baatrup & Junge, 2001; Schlenk vd., 2008).

Bu tez çalışmasında strobilurin fungusiti Azoxystrobin'in sivrisinek balığı *Gambusia holbrooki* (Girard, 1859) üzerinde akut ve kronik toksisitesinin belirlenmesi amaçlanmaktadır.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOT

3.1. Deney Hayvanlarının Temini

Bu araştırmada, Trakya bölgesinde tatlı sularda, göl ve göletlerde yaygın olarak bulunan *Gambusia holbrooki* türü, deney hayvanı olarak kullanılmıştır. Balıklar, Edirne ili Merkez ilçesinde bulunan Trakya Üniversitesi Balkan Yerleşkesi sınırları içerisindeki Güllapoğlu Göleti'nden toplanmıştır. Balık toplama işlemi, T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü'nden alınan araştırma izninden sonra gerçekleştirilmiştir. Tüm deneyler, Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun bilgisi ve onayı ile yapılmıştır.

Çizelge 3.1. Balıkların toplandığı zamanda doğal yaşam suyunun fizikokimyasal özellikleri.

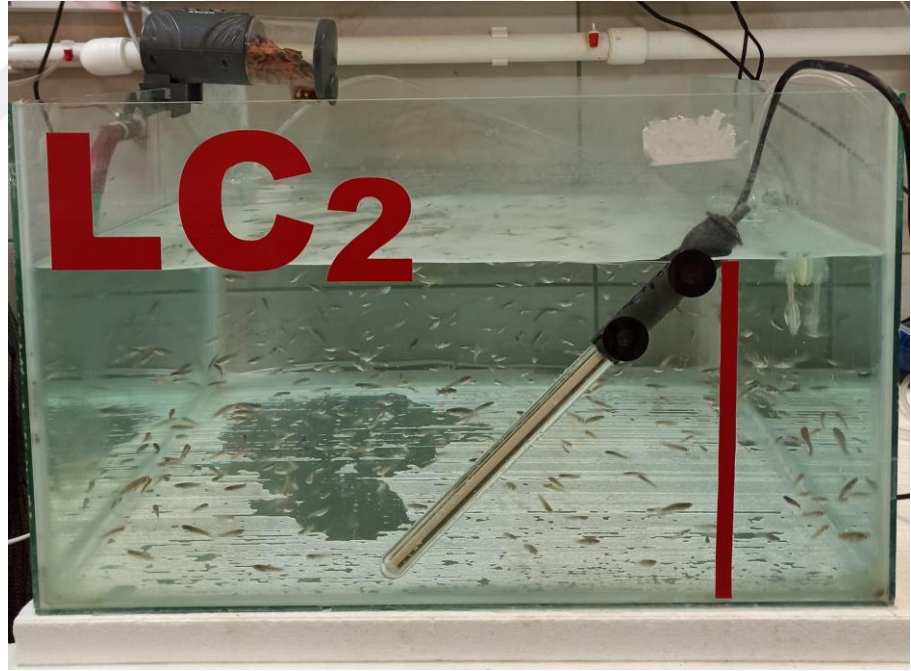
Parametre	Değer
pH	6,12
Çöz. Oksijen (Capriglione vd.)	1,2 mV
Çöz. Oksijen % (LDO%)	7,13 mg/L
Sıcaklık	22,6 °C
İletkenlik (EC)	656 µS/cm
Tuzluluk (TDS)	225 mg/L

Balıkların toplandığı anda doğal yaşam suyunun fiziksel özellikleri Çizelge 3.1'de belirtilmiştir.

Göletten kepçe yardımı ile toplanan balıklar, 30 dakika içerisinde, göletten alınan suyla dolu 3 adet 19 L'lik steril tek kullanımlık polipropilen (PP) kaplarda çalışma alanına taşınmıştır. Toplama ve taşıma işlemlerinde balıklar strese maruz kalacağından, deney öncesi tüm balıklar stok akvaryumlarında bekletilmiştir (Şekil 3.1).

Yapılan deneylerde *Gambusia holbrooki* 12 saatte bir (TetraMin Flakes®) pul yem ile beslenmişlerdir (Şekil 3.2). Bu yemin bileşimlerinde ise balık ve balık yan ürünleri, tahıllar (buğday, mısır), mayalar, bitkisel protein ekstraktı, yumuşakçalar ve kabuklu hayvanlar, sıvı ve katı yağlar, yosunlar, şeker ve mineraller yere almaktadır.

Deneyde kullanılan TetraMin Flakes®'in analitik bileşenleri ham protein % 46, ham sıvı ve katı yağlar %11, ham selüloz %3, nem oranı %6' dır. Katkı maddeleri vitaminler, pro vitaminler ve benzer etkiye sahip kimyasal maddeler; A vitamini 37680 IE/kg, D3 vitamini 1990 IE/kg. Mikro besin bağlantıları; E5 Manganez 96 mg/kg, E6 Çinko 57 mg/kg, E1 Demir 37 mg/kg, E3 Kobalt 0,7 mg/kg' dan oluşmaktadır.



Şekil 3.1. Balıkların akvaryuma alınması.



Şekil 3.2. Stok akvaryumunun üstten görünümü.

Deney hayvanlarının ortama ve deney suyunun fizikokimyasal özelliklerine uyum sağlamasını sağlamak amacıyla, balıkların doğal ortamından alınan su, stok akvaryumu ve deneyde kullanılacak olan su ile 2 gün arayla, %25, %50 ve %75 oranlarında değiştirilmiştir. 7 günün sonunda ise sadece deneyde kullanılacak su ile değiştirilmiştir.

Deney hayvanlarının tamamen deney suyuna sahip stok akvaryumuna uyum sağlaması sağlanmıştır. Bu amaçla, 3 adet 40 L'lik cam akvaryum stok akvaryumu olarak kullanılmıştır. Balıklar, 12 saatte bir TetraMin Flakes® pul yem ile beslenmişlerdir. Tüm deneyler boyunca stok akvaryumlarına hava motoru (RS® 628A) ile 3,5 L/saat hava verilmiştir. Termostatlı ısıtıcılar yardımıyla akvaryumların su sıcaklıkları, $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlanmıştır. Laboratuvar ve stok akvaryum ortamı sıcaklık ortalaması $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ olarak ölçülmüştür. Deney hayvanlarının bulunduğu stok akvaryum suyunun fiziksel özellikleri her gün ölçülmüştür. Balıklar, 12:12 gece-gündüz periyodunda 14 gün süreyle deney ortamına alıştırmıştır. Akut toksisite deneylerinden 24 saat önce tüm deney gruplarında yer alan balıklara yemlenmesi kesilmiştir.

3.2. Deneyde Kullanılan Azoxystrobin Çözeltisinin Hazırlanması

Deneyde Ferbis firmasına ait CİLİA® marka aktif madde konsantrasyonu %w/w %23 azoxystrobin içeren fungusit kullanılmıştır. Temel fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Deneylerde kullanılan fungusitin temel fizikokimyasal özellikleri.

Görünüş	Krem renkli viskoz sıvı
Koku	Karakteristik kokulu
pH (%10)	8,0 -10,0
Kaynama Noktası	Bilinmiyor
Parlama Noktası	Yoktur
Patlayıcılık Özellikleri	Tespit edilmemiştir.
Oksitleme Özellikleri	Yoktur.
Buhar Basıncı	$1.1 \cdot 10^{-7}$ mPa (20 °C) (azoxystrobin)
Nispi Yoğunluk	1,050-1,150 g/cm ³ (20 °C)
Çözünürlük	Su içinde çözünür.
Akışkanlık (Vizkozite)	1000-5000 cps (DV-II+PRO, RPM 10, Spindle 3, 25 °C)
Buhar Yoğunluğu	Bilinmiyor.

Stok çözeltinin hazırlanması ve saklanması için kullanılan beherler, cam şişe ve diğer cam malzemeler, daha önce hiç kullanılmamış ve distile su ile durulanmıştır. Manyetik karıştırıcı (Elektro-Mag® M22) ile tamamen çözünmesi sağlanmıştır.

Kullanılan Kimyasal Madde: Ferbis CİLİA®

IUPAC Adı: metil (*E*)-2-[2-[6-(2-siyanofenoksi) pirimidin-4-il] oksifenil]-3-metoksiprop-2-enoat

Moleküler formülü: C₂₂H₁₇N₃O₅

Moleküler Ağırlığı: 403.4

Ticari İsim: Ferbis Cilia (250g/L Azoxystrobin)

Stok Çözeltinin Hazırlanması:

Azoxystrobin' den

1mL alıp 1 L' ye tamamlandığında 250 mg/L' lik Ana Stok Çözelti elde edilmiştir.

250 mg/L' lik Ana stoktan;

100 ml alıp 1 L' ye tamamlandığında 25 mg/L' lik çözelti elde edilmiştir.

250 mg/L' lik çözeltiden;

50 ml alıp 1 L' ye tamamlandığında 12,5 mg/L' lik çözelti elde edilmiştir.

250 mg/L' lik çözeltiden;

10 mL alıp 1 L' ye tamamlandığında 2,5 mg/L' lik çözelti elde edilmiştir.

250 mg/L' lik çözeltiden;

1 mL alıp 1 L' ye tamamlandığında 0,25 mg/L' lik çözelti elde edilmiştir.

250 mg/L' lik çözeltiden;

0,5 mL alıp 1 L' ye tamamlandığında 0,125 mg/L' lik çözelti elde edilmiştir.

3.3. Deneylerde Kullanılan Yöntemler

Akut toksisite deneylerinde, OECD:203 (The Organisation for Economic Co-operation and Development [OECD], 1992) rehberinden yararlanılmıştır. Deneylerde, LC₅₀ değeri 96 saat süreli statik akut toksisite deney yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır.

Uygun deney konsantrasyonlarının seçimi için, LC₅₀ değerini belirleyecek asıl deneyler öncesinde ön tarama deneyleri gerçekleştirilmiştir. Ön tarama deneyleri, 2 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Ön tarama deneylerinden elde edilen konsantrasyonlar referans alınarak, LC₅₀ deneyleri gerçekleştirilmiştir. Uygun bulunan konsantrasyonlarda yapılan akut toksisite deneyleri, 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.3. Akut toksisite LC₅₀ deneyleri ön tarama testi konsantrasyonları.

Ana Stok Çözeltiden Alınan Miktar	Ön Tarama Testi konsantrasyonları
0,5 mL	0,125 mg/L
1 mL	0,25mg/L
10 mL	2,5mg/L
50 mL	12,5mg/L
100 mL	25 mg/L

Kronik deneylerde konsantrasyon seçimi LC₅₀'ye göre daha düşük konsantrasyonlarda seçilmiştir. Kronik deneyde konsantrasyon seçimi yapılırken akut toksisite testleri referans alınarak LC₅₀ değerinin %5, %10 ve %15 i olarak belirlenmiştir. Negatif kontrol grubu dahil olmak üzere 4 grupta kronik deney gerçekleştirilmiştir.

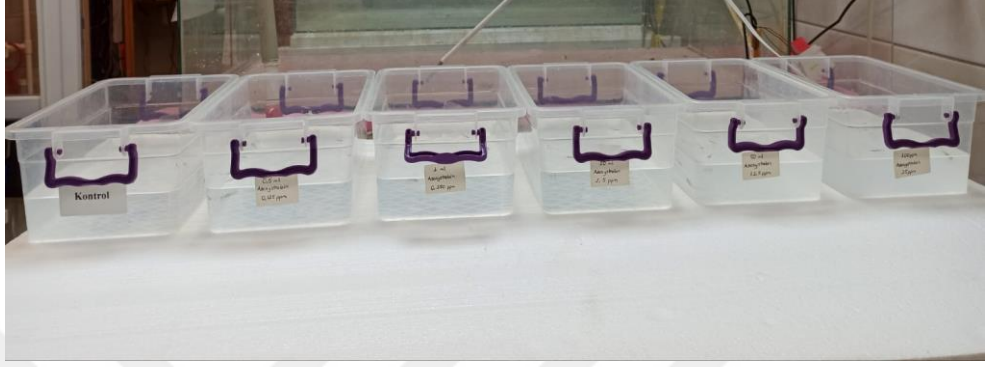
3.3.1. Akut Toksisite Deney Sistemi

Denemelerde azoxystrobinin *Gambusia holbrooki* üzerindeki akut toksik etkilerinin belirlenmesi amacıyla akut toksisite deneyleri gerçekleştirilmiştir.

LC₅₀ değerinin hesaplanması için gerçekleştirilecek deneyler öncesinde, öncelikle *Gambusia holbrooki* türü üzerinde strobilurin grubu fungusitlerle yapılan deneyler ve ayrıca azoxystrobinin öncelikle lebistesgiller familyasına ait diğer sucul canlılar üzerinde gerçekleştirilen akut toksisite deneyleri literatürde detaylı bir şekilde incelenmiştir.

Bu inceleme sonucunda, ön deney için belirli konsantrasyon aralıkları tespit edilmiştir. Ön tarama aşamasında negatif kontrol grubu ile 0.125, 0.5, 2.5, 12.5 ve 25 mg/L azoxystrobin konsantrasyon grupları kullanılmıştır. İkinci aşamada, ön tarama sonuçlarına dayanarak negatif kontrol grubu ile 1,0 mg/L, 1,3 mg/L, 1,5 mg/L ve 1,8 mg/L azoxystrobin konsantrasyonları kullanılmıştır. Deneyde kullanılacak tüm hayvanlar deney öncesinde laboratuvar ortamına uyum sağlamaları için 14 gün süre ile akvaryumda bakılmıştır. Uyum sağlayan balıklarla akut toksisite deney sistemleri kurulmuştur (Şekil 3.3). Akut ön tarama deneyinde negatif kontrol ve 5 konsantrasyon grubuyla çalışılmıştır (Çizelge 3.3) ve her bir deney grubunda 1 litre deney suyu içeren polipropilen (PP) malzeme kaplar kullanılmıştır.

Stok çözültiden hedef konsantrasyonlara uygun miktardaki azoxystrobin çözültisinin aktarılması, pipetleme cihazı (IsoLab® Pipette Pump) ile tek kullanımlık polistren (PS) pipet ile sağlanmıştır. Negatif kontrol gruplarına azoxystrobin uygulanmamıştır.

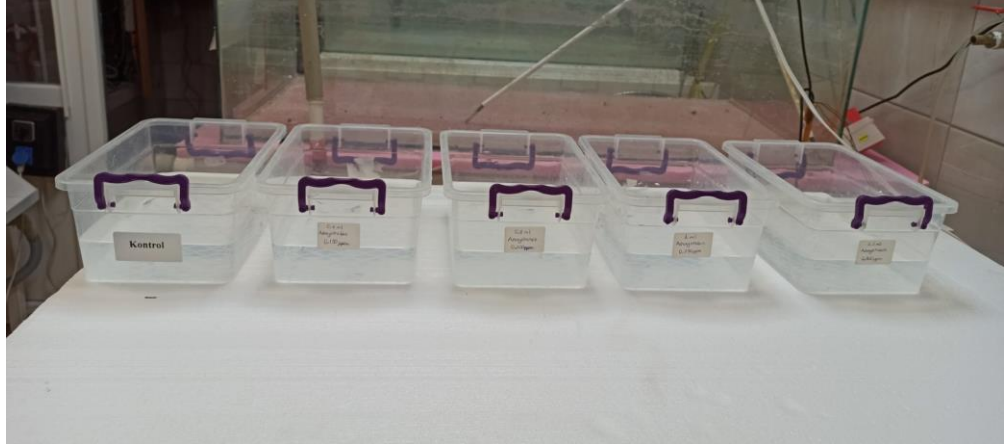


Şekil 3.3. Akut toksisite ön tarama deney düzeneği.

Negatif kontrol grubu da dahil olmak üzere her grupta 7 adet deney hayvanı ön tarama testine tabii tutulmuştur (Şekil 3.3). Deneylerde kullanılan balıkların seçiminde dişi erkek sayısının eşitliği göz ardı edilmiştir. Negatif kontrol ve konsantrasyon gruplarında deneye dahil edilecek balıkların belirlenmesi randomize yapılmıştır. Ön Tarama testi tamamlandıktan sonra LC₅₀ değerinin belirlenmesi için ön tarama testi göz önünde bulundurularak negatif kontrol ve 4 konsantrasyon grubuyla çalışılmıştır ve her bir deney grubunda 1 litre deney suyu içeren polipropilen (PP) malzeme kaplar kullanılmıştır.

Negatif kontrol grubu da dahil olmak üzere her grupta 10 adet deney hayvanı akut testine tabii tutulmuştur (Şekil 3.4). Negatif kontrol ve konsantrasyon gruplarında deneye dahil edilecek balıkların belirlenmesi eşey grupları açısından randomize yapılmıştır.

Yapılan tüm 96 saatlik akut toksisite testlerinde her 24 saatte bir ölen hayvanların sayısı kaydedilmiştir. Tüm deneylerde ölen balıklar, mümkün olan en kısa sürede akvaryum ortamından uzaklaştırılmıştır.



Şekil 3.4. Akut toksisite deney düzeneği.

Deney sırasında negatif kontrol ve konsantrasyon gruplarının 24 saatte bir fizikokimyasal parametre ölçümleri yapılmıştır. pH ölçümleri Eutech EcoScan pH 5 Kit Taşınabilir pH Metre ile yapılmıştır. Kullanılan prob her ölçüm sonrasında distile su ile durulanmıştır. Elektriksel iletkenlik ve sıcaklık Hanna dist 6 ile yapılmış olup her ölçüm sonrasında distile su ile durulanmıştır.

Çizelge 3.4. Akut ön tarama toksisite deneyi gruplarının fiziksel parametrelerinin değerleri (Tekrar deneylerinin değerleri de hesaplamaaya dahil edilmiştir, ortalama $\pm$ standart sapma).

Parametre/ konsantrasyon	Negatif Kontrol	0,125 mg/L	0,250 mg/L	2,500 mg/L	12,500 mg/L	25 mg/L
pH	7,65 $\pm$ 0,59	7,63 $\pm$ 0,59	7,6 $\pm$ 0,63	7,61 $\pm$ 0,68	7,5 $\pm$ 0,67	7,48 $\pm$ 0,58
Sıcaklık	19,3 $\pm$ 2	19,28 $\pm$ 1,9	19,28 $\pm$ 1,9	19,36 $\pm$ 2	19,32 $\pm$ 1,9	19,34 $\pm$ 1,9
İletkenlik (EC) μS	893,4 $\pm$ 88	877,4 $\pm$ 63	871,2 $\pm$ 59	837,8 $\pm$ 55	837,4 $\pm$ 69	866,2 $\pm$ 78

Çizelge 3.5. Akut ön tarama toksisite deneyi gruplarının ortam sıcaklığı (Tekrar deneylerinin değerleri de hesaplamaaya dahil edilmiştir, ortalama $\pm$ standart sapma).

Sıcaklık/ Saat	0 Saat	24 Saat	48 Saat	72 Saat	96 Saat
Ortam Sıcaklığı	21,1 $\pm$ 0,2	21,95 $\pm$ 0,1	21,45 $\pm$ 0,1	20,75 $\pm$ 0,3	20,8 $\pm$ 0,4

Çizelge 3.6. Akut toksisite deney gruplarının fiziksel parametrelerinin değerleri (Tekrar deneylerinin değerleri de hesaplamaaya dahil edilmiştir, ortalama $\pm$ standart sapma).

Parametre/ konsantrasyon	Negatif Kontrol	1,0 mg/L	1,3 mg/L	1,5 mg/L	1,8 mg/L
pH	7,34 $\pm$ 0,56	7,5 $\pm$ 0,62	7,32 $\pm$ 0,54	7,47 $\pm$ 0,58	7,32 $\pm$ 0,67
Sıcaklık	15,5 $\pm$ 0,50	15,6 $\pm$ 0,40	15,6 $\pm$ 0,50	15,7 $\pm$ 0,40	15,5 $\pm$ 0,60
İletkenlik (EC) μ S/cm	814,8 $\pm$ 91	877 $\pm$ 67	810,6 $\pm$ 57	833,6 $\pm$ 65	839,6 $\pm$ 50

Çizelge 3.7. Akut toksisite deneyi gruplarının ortam sıcaklığı (Tekrar deneylerinin değerleri de hesaplamaaya dahil edilmiştir, ortalama $\pm$ standart sapma).

Sıcaklık/Saat	0 Saat	24 Saat	48 Saat	72 Saat	96 Saat
Ortam Sıcaklığı	16,23 $\pm$ 0,5	16,5 $\pm$ 0,2	16,6 $\pm$ 0,3	16,5 $\pm$ 0,2	16,4 $\pm$ 0,3

3.3.2. Kronik Toksisite Deney Sistemi

Denemelerde azoxystrobinin *Gambusia holbrooki* üzerindeki kronik toksik etkilerinin belirlenmesi amacıyla 100 günlük kronik toksisite deneyi yapılmıştır. Kronik deneylerde değerlendirilecek parametreler için *Gambusia holbrooki* üzerinde öncelikle strobilurin grubu fungusitler olmak üzere diğer fungusitlerle yapılan azoxystrobinin sucul canlılar üzerinde yapılan kronik toksisite deneyleri literatürde incelenmiştir.

Yapılan akut toksisite sonucunda belirlenen LC₅₀ değeri sonucu da referans alınarak kronik deney için konsantrasyon aralıkları belirlenmiştir. 96 saatlik akut toksisite sonucu bulunan LC₅₀ değerinin (1,362 mg/L) %5, %10 ve %15 i olarak belirlenmiştir.

Negatif kontrol grubu ve 0,068, 0,136, 0,204 mg/L azoxystrobin konsantrasyon grupları kullanılmıştır. Her bir deney grubunda 20 litre deney suyu içeren polipropilen (PP) malzeme kaplar kullanılmıştır. Stok çözeltiden hedef konsantrasyonlara uygun miktardaki azoxystrobin çözeltisinin aktarılması, pipetleme cihazı (IsoLab® Pipette Pump) ile tek kullanımlık polistren (PS) pipet ile sağlanmıştır. Negatif kontrol gruplarına azoxystrobin uygulanmamıştır. Negatif kontrol grubu da dahil olmak üzere her grupta 20 adet deney hayvanı kronik deney testine 100 gün boyunca tabii tutulmuştur (Şekil 3.5). Deneylerde kullanılan balıkların seçiminde dişi ve erkek sayısının eşitliği göz ardı edilmiştir. Negatif kontrol ve konsantrasyon gruplarında deneye dahil edilecek balıkların belirlenmesi randomize yapılmıştır.



Şekil 3.5. Kronik toksisite deney düzeneği.

Kronik etkilerin belirlenmesi amacıyla 0,068, 0,136, 0,204 mg/L azoxystrobin konsantrasyonunda her birinde 20 balık içeren 4 deney grubu hazırlanmış ve 100 gün süreyle fiziksel, davranışsal değişimler ve ölümler tespit edilmiştir. Kronik toksisite testinde yer alan 4 deney grubu da her 12 saatte bir (TetraMin Flakes®) pul yem ile beslenmiş, buharlaşma nedeniyle su miktarının azalacağı düşünülerek deney suyu ve azoxystrobin çözeltisi her 10 günde bir yenilenmiştir. Su değişiminin yapılacağı gün azoxystrobin çözeltisi tazelenerek deney akvaryumlarına verilmiştir. Deneyler boyunca akvaryumlara hava motoru (RS® 628A) ile hava (3,5 L/saat) verilmiştir. Termostatlı ısıtıcılar yardımı ile akvaryumların su sıcaklıkları, $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de tutulmuştur. Deney esnasında negatif kontrol ve konsantrasyon gruplarının 24 saatte bir fizikokimyasal parametreleri düzenli olarak ölçümleri yapılmıştır (Çizelge 3.8). pH ölçümleri Eutech EcoScan pH 5 Kit Taşınabilir pH Metre ile yapılmıştır.

Kullanılan prob her ölçüm sonrasında distile su ile durulanmıştır. Elektriksel iletkenlik ve sıcaklık Hanna dist 6 ile yapılmış olup her ölçüm sonrasında distile su ile durulanmıştır.

Çizelge 3.8. Kronik toksisite deney gruplarının fiziksel parametrelerin 100 günlük ortalaması (ortalama $\pm$ standart sapma).

Parametre/ konsantrasyon	Negatif Kontrol	0,068 mg/L	0,136 mg/L	0,204 mg/L
pH	7,34 $\pm$ 0,39	7,25 $\pm$ 0,42	7,17 $\pm$ 0,53	7,11 $\pm$ 0,67
Sıcaklık	24,8 $\pm$ 0,50	24,9 $\pm$ 0,70	24,5 $\pm$ 0,80	24,2 $\pm$ 0,50
İletkenlik (EC) μ S/cm	846,5 $\pm$ 45	840,5 $\pm$ 51	850,75 $\pm$ 69	839 $\pm$ 67

Kronik toksisite deney sistemlerinin kontrolleri her gün aynı saatte 2 saat boyunca yapılmış, görülen kronik değişimler incelenmiş ve kaydedilmiştir (Çizelge 3.10). Kronik toksisite deneyi gruplarının bulunduğu ortam sıcaklığının 100 günlük ortalaması ve standart sapması 17,4 $\pm$ 2,1' dir.

3.3.3. Akut ve Kronik Deney Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Akut toksisite deneyleri sonucunda ortalama LC₅₀ değeri hesaplanmıştır. LC₅₀ değerlerinin hesaplamaları için IBM® (International Business Machines) SPSS Statistics 29 programında Probit Regresyon analizine göre yapılmıştır. Deneyler sonunda elde edilen 24, 48, 72 ve 96 saatlik LC₅₀ değerlerinin ve %95 güven aralıklarının anlamlılık düzeyleri, SPSS Probit analizinden elde edilen "Sig." (Significance) (Modelin ve verilerin Pearson Chi-Square Goodness-of-Fit Test'e göre anlamlılık değeri) parametresine göre değerlendirilmiştir. Ayrıca deneylerdeki konsantrasyon-mortalite korelasyonunun anlamlılık düzeylerinin Pearson korelasyon önem kontrolleri 0,05 değerine göre SPSS ile hesaplanmıştır. LC₅₀ değerleri dışındaki verilerin ortalaması, standart sapmaları ve grafiklerin oluşturulmasında Microsoft Office Excel 2016 programından yararlanılmıştır.

Çizelge 3.9. Kronik toksisite deneyinde 100 gün boyunca dikkat edilecek parametreler ve değerlendirmeleri.

Parametre	Açıklama
Homojen Dağılım	Balıkların akvaryumun her yerinde eşit şekilde dağılım göstermesi durumu değerlendirilecektir.
Kümelenme	Balıkların akvaryumun bazı bölgelerinde grup olarak toplanması değerlendirilecektir.
Yüzeyde Yüzme	Balıkların akvaryumun su yüzeyinden 5 cm derinlikte bulunması durumuna göre değerlendirilecektir.
Dipte Yüzme	Balıkların akvaryumun dip kısmından 5 cm yüksekte bulunması durumuna göre değerlendirilecektir.
Hareketlilik	Balıkların akvaryumun içerisindeki aktif olarak yüzme durumu değerlendirilecektir.
Deri Renk Değişimi	Balıkların derisinde renk değişimi değerlendirilecektir.
Göğüs Yüzgeçlerinde Hareketlilik	Balıkların göğüs yüzgeçlerinin açılıp kapanması durumu değerlendirilecektir.
Kuyruk Yüzgeçlerinde Hareketlilik	Balıkların kuyruk yüzgeçlerini vurma durumuna göre değerlendirilecektir.
Saat Yönünde Hareket	Akvaryum içerisindeki balıkların saat yönünde yüzmesi durumu değerlendirilecektir.
Saatın Tersi Yönde Hareket	Akvaryum içerisindeki balıkların saatin tersi yönünde yüzmesi durumu değerlendirilecektir.
Solungaçlarda Kanlanma	Balıkların solungaçlarının kanlanması durumu değerlendirilecektir.
Denge Kaybı	Düzensiz yüzme, ters yüzme, dönerek yüzme durumu değerlendirilecektir.
Yem Tüketimi	Günlük olarak akvaryuma atılan yemden tüketilmeyen ve su dibine çöken yem miktarına bağlı olarak değerlendirilecektir.
Saldırganlık	Agresif tepkiler, karakteristik kısa bir hızlı yüzme ve bazen ağzın açılması ve ısırma ile birlikte olan durum değerlendirilecektir.
Kur Yapma Davranışı	Erkek bireylerin dişi bireylere yakın yüzdüğü dişinin genital açıklığına yakın ve tam olarak ona yönelmesi durumu değerlendirilecektir.

Çizelge 3.10. Kronik toksisite deney gözlem ölçeği.

Etki/Deney	Kronik Toksisite Deneyi Konsantrasyon Grupları			
	Kontrol	0,068 mg/L	0,136 mg/L	0,204 mg/L
Homojen Dağılım				
Kümelenme				
Yüzeyde Yüzme				
Dipte Yüzme				
Hareketlilik				
Deri Renk Değişimi				
Göğüs Yüzgeçlerinde Hareketlilik				
Kuyruk Yüzgeçlerinde Hareketlilik				
Saat Yönünde Hareket				
Saatın Tersi Yönde Hareket				
Solungaçlarda Kanlanma				
Denge Kaybı				
Yem Tüketimi				
Saldırganlık				
Kur Yapma Davranışı				
(0): Hiç Gözlenmedi.				
(1): Toplam birey sayısının yarısından az sayıda bireyde gözlendi.				
(3): Toplam birey sayısının yarısında gözlendi.				
(3): Toplam birey sayısının yarısında fazla sayıda bireyde gözlendi.				
(4): Bütün bireylerde gözlendi.				

Kronik toksisite deneylerinde gözlenen fiziksel ve davranışsal değişimler her gün saat 13.00'te günde 3 saat olmak üzere çizelge 3.9'da yer alan açıklamalar dikkate alınarak gözlemler kaydedilmiştir. Azoxystrobin *Gambusia holbrooki* üzerindeki fiziksel ve davranışsal değişiklikleri sadece kronik toksisite deneyinde incelenmiştir. Kronik toksisite deneylerinde gözlenen fiziksel ve davranışsal değişikliklerin 100 günlük ortalaması ve standart sapması hesaplanmıştır.

BÖLÜM 4

SONUÇLAR

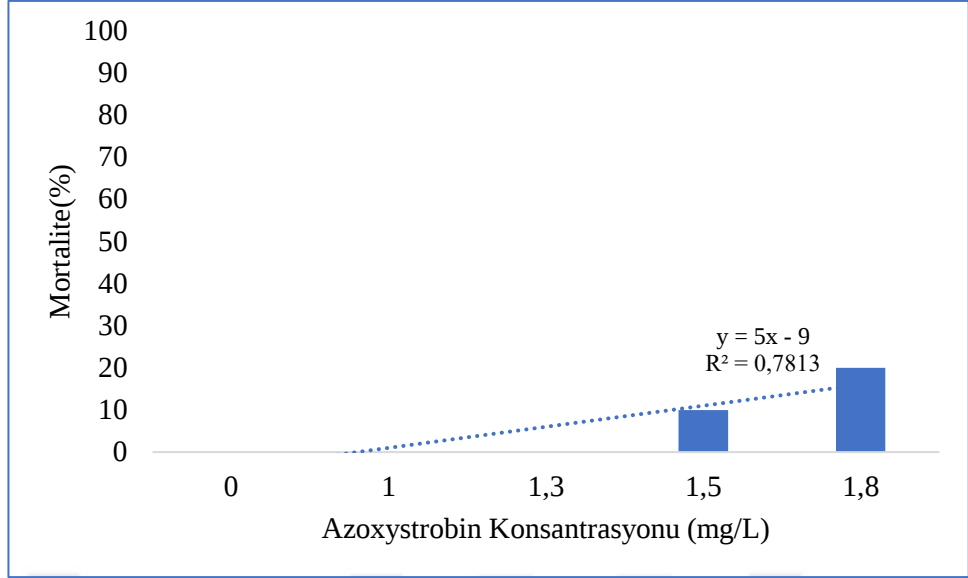
4.1. Akut Toksik Etki, LC₅₀ Değerinin Belirlenmesi ve Değerlendirilmesi

Deneylerde kullanılan balıklar 2022 yılı mart ayında stok akvaryumlarına alınmış, balıkların ortama uyum sağlaması için 14 gün süreyle bekletilmiştir. Deneylerde kullanılan *Gambusia holbrooki*'lerin uzunluğu 30±10 mm ve ağırlığı 0,2-0,7 g olarak belirlenmiştir. Tüm akut deneyler toplamda 3 tekrarlı gerçekleştirilmiştir.

Tarama deneyi sonrası belirlenmiş olan akut test deneyinde çalışılan azoxystrobin konsantrasyonlarının 24,48,72 ve 96 saatlik zamanlarda ölüm oranları Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında *Gambusia holbrooki*'nin 24,48,72 ve 96 saatlik ölüm sayıları ve yüzdeleri.

		24 Saat		48 Saat		72 Saat		96 Saat	
Konsantrasyon (mg/L)	Toplam Balık Sayısı	Ölen Balık Sayısı	Oran (%)	Ölen Balık Sayısı	Oran (%)	Ölen Balık Sayısı	Oran (%)	Ölen Balık Sayısı	Oran (%)
0	30	0	0	0	0	0	0	0	0
1,0	30	0	0	0	0	0	0	0	0
1,3	30	0	0	3	10	3	10	12	40
1,5	30	3	10	6	20	18	60	21	70
1,8	30	6	20	12	40	21	70	30	100



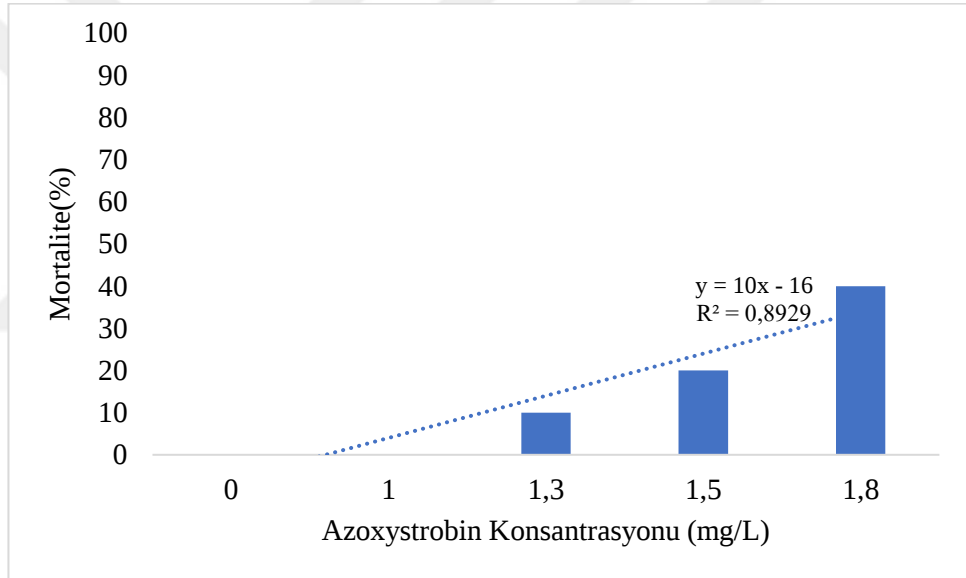
Şekil 4.1. Akut toksisite deneylerinde 24 saatlik konsantrasyona bağlı konsantrasyon-yüzde mortalite grafiği.

24 saatlik akut toksisite testinin ardından konsantrasyon ile mortalite arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi için Pearson korelasyon analizi gerçekleştirilmiştir. Bu analizde, önem kontrolü yapılarak belirlenen p değeri 0,1 olarak tespit edilmiştir (Sonuç anlamlılık değeri: $p < 0,05$). Bu sonuçlar, konsantrasyon ile mortalite arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olmadığını göstermektedir (Şekil 4.1).

24 saatin sonunda yapılan gözlemler doğrultusunda negatif kontrol grubunda ve 1 mg/L' lik çözeltide ölüm gözlenmemiştir. 1,8 mg/L' lik çözeltide 2 ölümün gerçekleştiği ve ölen deney hayvanlarının solungaçlarının ve göz çevresinin kanlandığı gözlemlendi (Şekil 4.2). 1,8 mg/L'de yer alan bir başka deney hayvanının da hareket yeteneğinin azaldığı ve solungaçlarında kanlanma gözlemlendi.



Şekil 4.2. 1,8 mg/L’de 24 saatin sonunda ölen deney hayvanının göz çevresinde ve solungaçlarında meydana gelen kanlanma.



Şekil 4.3. Akut toksisite deneylerinde 48 saatlik konsantrasyona bağlı konsantrasyon-yüzde mortalite grafiği.

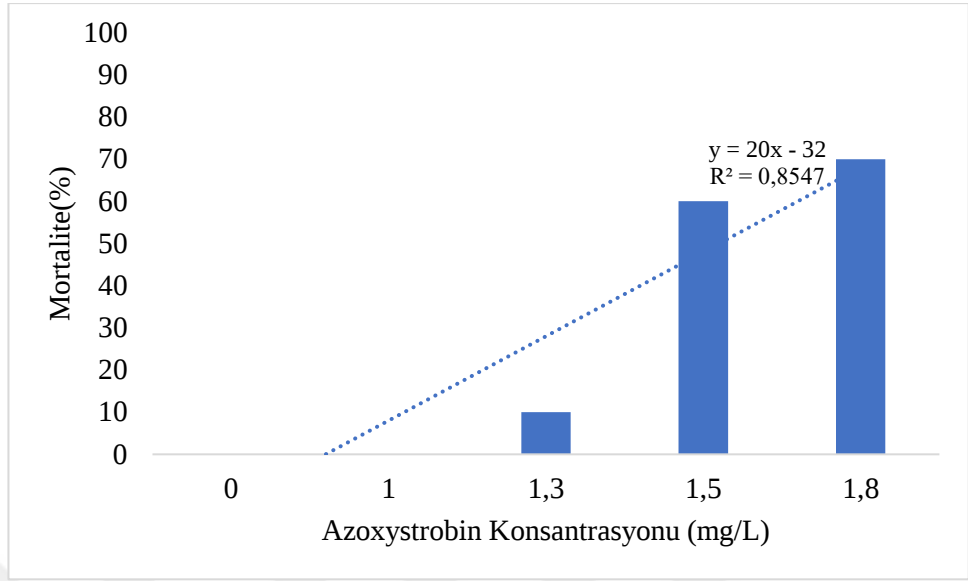
48 saatlik akut toksisite testinin ardından konsantrasyon ile mortalite arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi için Pearson korelasyon analizi gerçekleştirilmiştir. Bu analizde, önem kontrolü yapılarak belirlenen p değeri 0,03 olarak tespit edilmiştir (Sonuç anlamlılık değeri: $p < 0,05$). Bu sonuçlar, konsantrasyon ile mortalite arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olduğunu göstermektedir (Şekil 4.3).

Akut deneyin 48. saat sonrasında gözlem yapıldığında akut deney düzeneğinde 1,8 mg/L’de 4 adet ölü yavru gözlemlendi.

Yavru ölümlerinin doğum esnasında mı yoksa doğumdan sonra mı gerçekleştiği hakkında bir sonuca varılamadı. Doğuran deney hayvanında sağ ya da ölen deney hayvanlarından hangisine ait olduğu belirlenemedi. Ölü yavrulara ait fotoğraflar Şekil 4.4'te yer almaktadır.

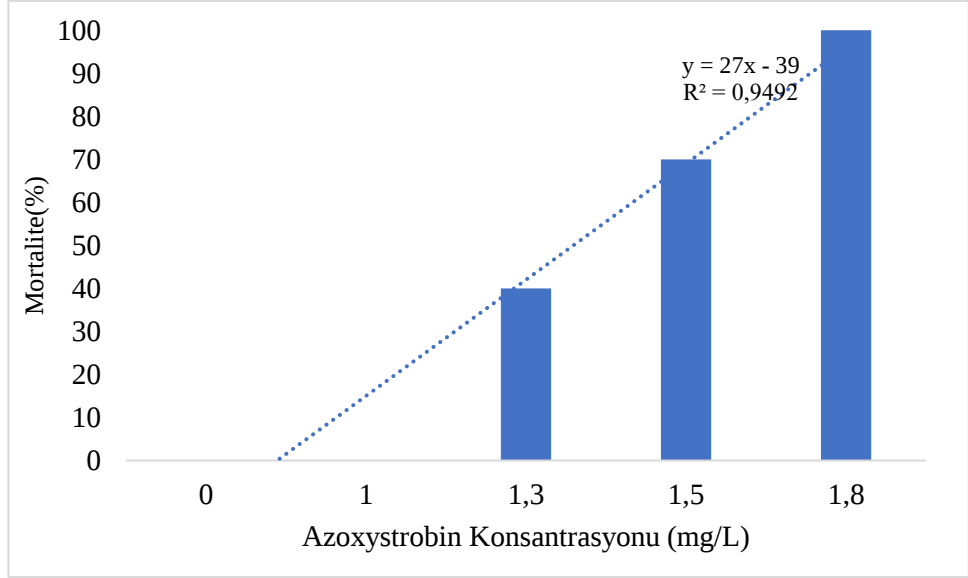


Şekil 4.4. 1,8 mg/L'de 48 saat sonunda gözlemlenen ölü yavrular.



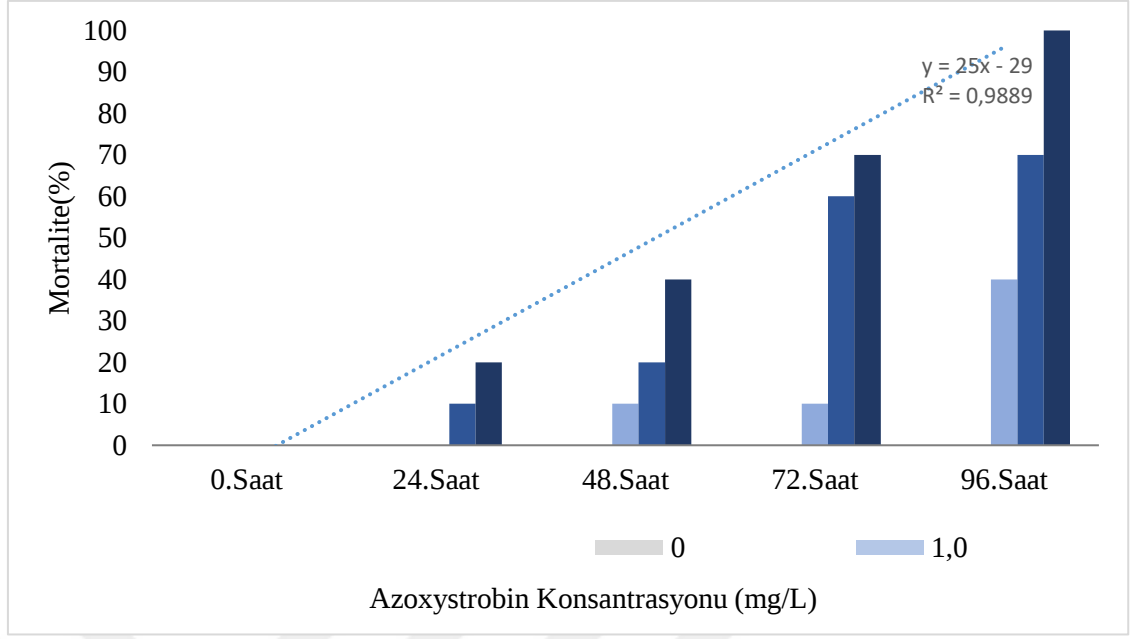
Şekil 4.5. Akut toksisite deneylerinde 72 saatlik konsantrasyona bağlı konsantrasyon-yüzde mortalite grafiği.

72 saatlik akut toksisite testinin ardından konsantrasyon ile mortalite arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi için Pearson korelasyon analizi gerçekleştirilmiştir. Bu analizde, önem kontrolü yapılarak belirlenen p değeri 0,01 olarak tespit edilmiştir (Sonuç anlamlılık değeri: $p < 0,05$). Bu sonuçlar, konsantrasyon ile mortalite arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olduğunu göstermektedir (Şekil 4.5).



Şekil 4.6. Akut toksisite deneylerinde 96 saatlik konsantrasyona bağlı konsantrasyon-yüzde mortalite grafiği.

96 saatlik deney süresi sonunda 1,5 mg/L azoxystrobinin konsantrasyon grubunda mortalite yüzdesi 70'e ulaşırken 1,8 mg/L azoxystrobinin konsantrasyon grubundaki mortalite %100 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.6). 96 saatlik deney süresi sonucunda konsantrasyon ile mortalite arasındaki ilişkinin Pearson korelasyon önem kontrolü yapılmış ve p değeri 0,002 olarak belirlenmiştir (Sonuç anlamlılık değeri: $p < 0,05$). Konsantrasyon ile mortalite arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulunmuştur (Şekil 4.6). 96 saatlik akut toksisite deneyi sonunda artan azoxystrobinin konsantrasyonu ile mortalite yüzdesinin artışı, tüm süreler (24., 48. ve 72. saatte) için benzerdir (Şekil 4.7).

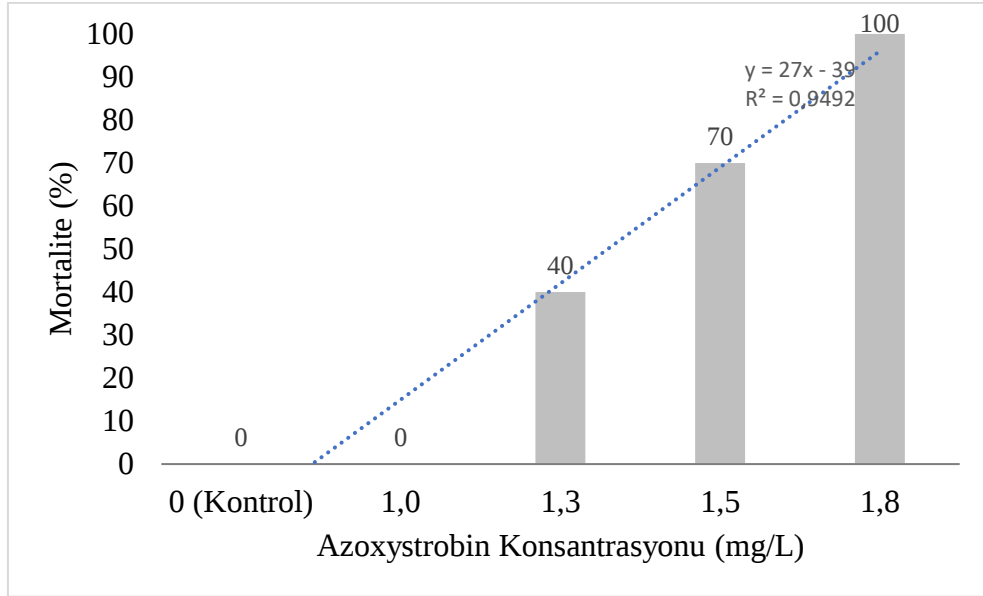


Şekil 4.7. Akut toksisite deneylerinde 0, 24, 48, 72 ve 96 saatlik konsantrasyonlara bağlı konsantrasyon-yüzde mortalite grafiği.

Akut toksisite deneylerinde 0. saat, 24. saat, 48. saat, 72. saat ve 96. saat içerisinde tüm konsantrasyonlarda gözlenen mortalite yüzdesi Şekil 4.7’de gösterilmiştir. 96 saatlik sürenin sonunda en yüksek mortalite 1,8 mg/L azoxystrobinin konsantrasyon grubundadır.

96 saatlik sürenin sonunda uygulanan azoxystrobinin konsantrasyonlarından en düşük mortalite 1 mg/L azoxystrobinin konsantrasyon grubundadır.

Artan azoxystrobinin konsantrasyonu ile mortalite yüzdesinin artışı benzerlik göstermektedir (Şekil 4.7). Uygulanan üç tekrarlı akut toksisite deneylerinin ve ortalamasının konsantrasyona bağlı 96 saatlik zamana bağlı konsantrasyon yüzde çizelgesi Şekil 4.8’de gösterilmiştir.



Şekil 4.8. Akut toksisite deneylerinde 96 saatlik konsantrasyona bağlı konsantrasyon-yüzde mortalite grafiği.

Akut toksisite deneylerinin tüm süreler içerisinde ölüm gözlenirken buna karşın negatif kontrol grubunda ölüm gözlenmemiştir. Test edilen en düşük konsantrasyon 1 mg/L'lik çözeltide de 96 saat boyunca ölüm gözlenmemiştir. Akut toksisite deneyi sonunda *Gambusia holbrooki* için azoxystrobinin 24, 48, 72 ve 96 saatlik LC₅₀ değerleri sırasıyla 2,551 mg/L, 1,952 mg/L, 1,567 mg/L ve 1,362 mg/L Çizelge 4.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. %95 güven aralığında azoxystrobinin *Gambusia holbrooki* için 24, 48, 72 ve 96 saatlik LC₅₀ değerleri (mg/L).

<i>Gambusia holbrooki</i>	Azoxystrobinin (mg/L) farklı maruz kalma saatlerindeki LC ₅₀ değerleri			
	24 Saat	48 Saat	72 Saat	96 Saat
	2,551	1,952	1,567	1,362
	(2,006-3,244)	(1,669-2,284)	(1,431-1.714)	(1,247-1,487)

Deneyler sonunda hesaplanan 24, 48, 72 ve 96 saatlik LC₅₀ değerlerinin ve %95 güven aralıklarının anlamlılık düzeyleri Probit analizine göre değerlendirilmiştir ($p \leq 0,001$: Çok yüksek düzeyde anlamlılık, $0,001 \leq p \leq 0,01$: Yüksek düzeyde anlamlılık, $0,01 \leq p \leq 0,05$: İstatiksel olarak anlamlılık.).

Çizelge 4.3. %95 güven aralığında Azoxystrobinin *Gambusia holbrooki* için 24, 48 ve 72 saatlik LC değerleri (mg/L).

Zaman	Nokta	Değer	Alt sınır	Üst sınır
24 Saat	LC 10.00	1,500	1,180	1,907
	LC 20.00	1,800	1,416	2,289
	LC 30.00	2,053	1,614	2,610
	LC 40.00	2,297	1,806	2,921
	LC 50.00	2,551	2,006	3,244
48 Saat	LC 10.00	1,302	1,113	1,523
	LC 20.00	1,496	1,279	1,750
	LC 30.00	1,654	1,414	1,935
	LC 40.00	1,802	1,540	2,108
	LC 50.00	1,952	1,669	2,284
72 Saat	LC 10.00	1,225	1,119	1,340
	LC 20.00	1,333	1,218	1,458
	LC 30.00	1,416	1,294	1,550
	LC 40.00	1,492	1,363	1,633
	LC 50.00	1,567	1,431	1,714

Çizelge 4.4. %95 güven aralığında azoxystrobinin *Gambusia holbrooki* için 96 saatlik LC değerleri (mg/L).

Zaman	Nokta	Değer	Alt sınır	Üst sınır
96 Saat	LC 1.00	0,888	0,813	0,970
	LC 10.00	1,076	0,985	1,175
	LC 20.00	1,167	1,068	1,274
	LC 30.00	1,237	1,132	1,351
	LC 40.00	1,300	1,190	1,420
	LC 50.00	1,362	1,247	1,487
	LC 60.00	1,427	1,307	1,558
	LC 70.00	1,500	1,373	1,638
	LC 80.00	1,590	1,456	1,737
	LC 90.00	1,724	1,579	1,883
	LC 99.99	2,090	1,913	2,282

4.2. Kronik Toksik Etkilerin Belirlenmesi ve Değerlendirilmesi

Gambusia holbrooki'de azoxystrobin ile etkileşim sonucu ortaya çıkabilecek kronik değişikliklerin gözlenebilmesi için 20'şer balık olan 3 konsantrasyon grubu ve negatif kontrol grubu 100 gün süreyle sırasıyla 0,068 mg/L, 0,136 mg/L ve 0,204 mg/L konsantrasyonlara maruz bırakılmıştır. Yapılan kronik toksisite deneyinde ilk 20 gün ölüm görülmemişken sırasıyla 21. gün 0,068 mg/L konsantrasyon grubunda 1 erkek birey, 25. gün 0,136 mg/L konsantrasyon grubunda ve 0,204 mg/L konsantrasyon grubunda 1'er erkek birey, 28. gün 0,068 mg/L konsantrasyon grubunda 1 dişi birey ve 0,136 mg/L konsantrasyon grubunda 1 erkek birey ölmüş; 100 gün süreli deney 75 canlı balık ile sonlandırılmıştır. Negatif kontrol grubunda ölüm gözlenmemiştir.

Çizelge 4.5. Kronik toksisite deneylerinde görülen bazı fiziksel ve davranışsal değişikliklerin değerlendirilmesi (ortalama $\pm$ standart sapma).

Etki/ Konsantrasyon (mg/L)	Negatif Kontrol	0,068	0,136	0,204
Homojen dağılım	3,9 $\pm$ 0,49	2,85 $\pm$ 0,62	2,25 $\pm$ 0,74	2,1 $\pm$ 0,59
Kümelenme	0 $\pm$ 0	1,075 $\pm$ 0,57	1,65 $\pm$ 0,65	1,715 $\pm$ 0,61
Yüzeyde yüzme	1,15 $\pm$ 0,73	0,975 $\pm$ 0,76	0,65 $\pm$ 0,66	0,825 $\pm$ 0,55
Dipte yüzme	1,175 $\pm$ 0,5	1,875 $\pm$ 0,6	2,125 $\pm$ 0,64	2,225 $\pm$ 0,62
Hareketlilik	3,9 $\pm$ 0,37	2,9 $\pm$ 0,54	2,87 $\pm$ 0,51	2,65 $\pm$ 0,66
Deri renk değişimi	0 $\pm$ 0	0,82 $\pm$ 0,38	0,85 $\pm$ 0,36	0,85 $\pm$ 0,36
Göğüs yüzgeçlerinde hareketlilik	4 $\pm$ 0	3,225 $\pm$ 0,48	3,15 $\pm$ 0,48	3,075 $\pm$ 0,57
Kuyruk yüzgeçlerinde hareketlilik	4 $\pm$ 0	3,175 $\pm$ 0,5	3,2 $\pm$ 0,51	3,025 $\pm$ 0,57
Saat yönünde hareket	3,225 $\pm$ 0,97	3,225 $\pm$ 0,99	3,225 $\pm$ 0,99	3,225 $\pm$ 0,99
Saatın tersi yönde hareket	3,175 $\pm$ 1,034	3,175 $\pm$ 1,05	3,175 $\pm$ 1,05	3,175 $\pm$ 0,99
Solungaçlarda kanlanma	0 $\pm$ 0	0,65 $\pm$ 0,48	0,675 $\pm$ 0,47	0,65 $\pm$ 0,48
Denge kaybı	0 $\pm$ 0	0,675 $\pm$ 0,47	0,725 $\pm$ 0,45	0,7 $\pm$ 0,46
Yem tüketimi	4 $\pm$ 0	3,55 $\pm$ 0,55	3,475 $\pm$ 0,64	3 $\pm$ 0,55
Saldırganlık	0,15 $\pm$ 0,53	1,25 $\pm$ 0,63	1,65 $\pm$ 0,57	1,78 $\pm$ 0,67
Kur Yapma Davranışı	2,075 $\pm$ 0,62	1,675 $\pm$ 0,53	1,175 $\pm$ 0,55	0,65 $\pm$ 0,62

(0): Hiç gözlenmedi.

(1): Toplam birey sayısının yarısından az sayıda bireyde gözlemlendi.

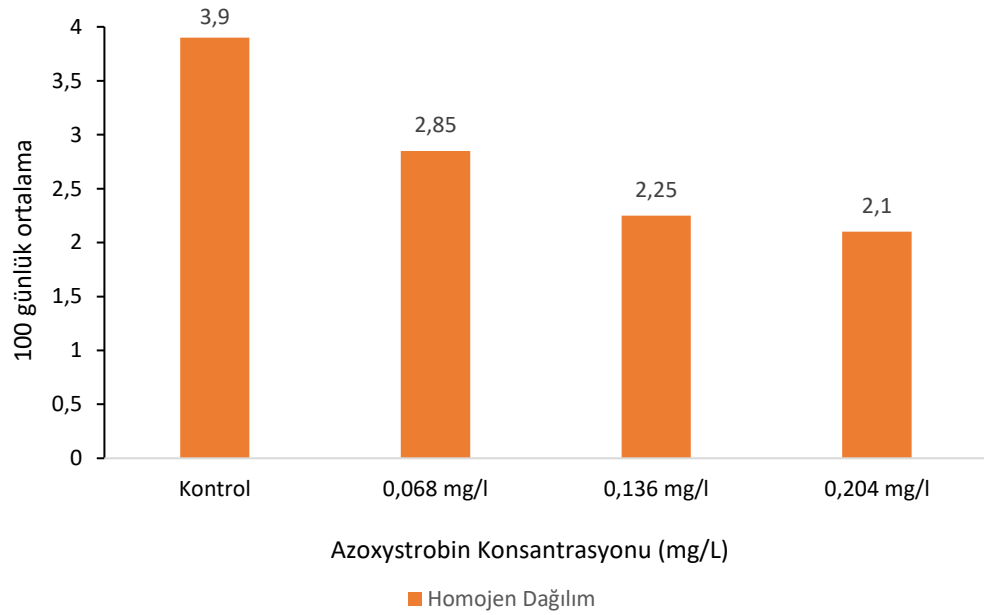
(3): Toplam birey sayısının yarısında gözlemlendi.

(3): Toplam birey sayısının yarısında fazla sayıda bireyde gözlemlendi.

(4): Bütün bireylerde gözlemlendi.

Kronik toksisite deneyleri süresince yapılan gözlemlerde balıkların sudaki dağılımlarında, yüzmeye davranışları, deri renk değişimi, solungaçlarda kanlanma, denge kaybı, yem tüketimi, saldırganlık ve kur yapma davranışı konsantrasyon gruplarına göre çeşitli farklılıklar gözlenmiştir.

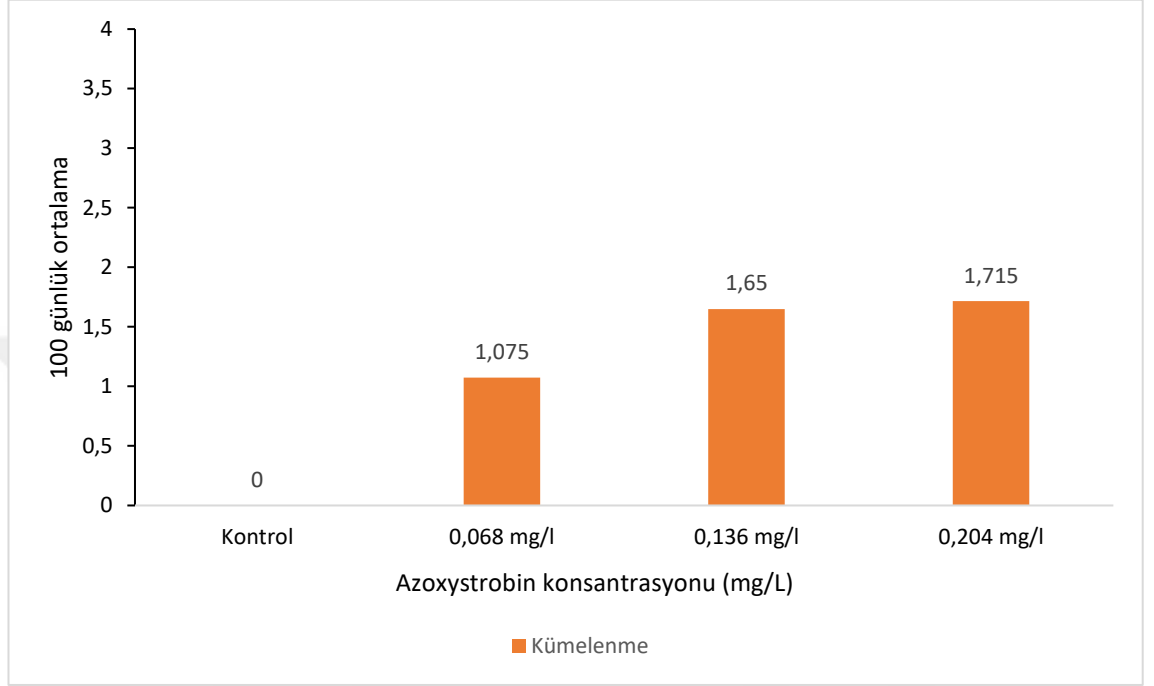
Homojen Dağılım, kümelenme, yüzeyde yüzmeye, dipte yüzmeye, hareketlilik, deri renk değişimi, göğüs yüzgeçlerinde hareketlilik, kuyruk yüzgeçlerinde hareketlilik, saat yönünde hareket, saatin tersi yönde hareket solungaçlarda kanlanma, denge kaybı, yem tüketimi, saldırganlık, kur yapma davranışı bakımında 100 gün boyunca negatif kontrol grubuna göre değişim 0-4 skalasında (0-Hiç Gözlenmedi, 1- Toplam Birey Sayısının Yarısından Az Sayıda Bireyde Gözlendi, 2-Toplam Birey Sayısının Yarısında Gözlendi, 3-Toplam Birey Sayısının Yarısında Fazla Sayıda Bireyde Gözlendi, 4-Bütün Bireylerde Gözlendi) araştırılmıştır. Bu veriler Şekil 4.9-4.26'teki grafiklerde verilmiştir.



Şekil 4.9. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan *Gambusia holbrooki*' nin homojen dağılım aktivitesi üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.

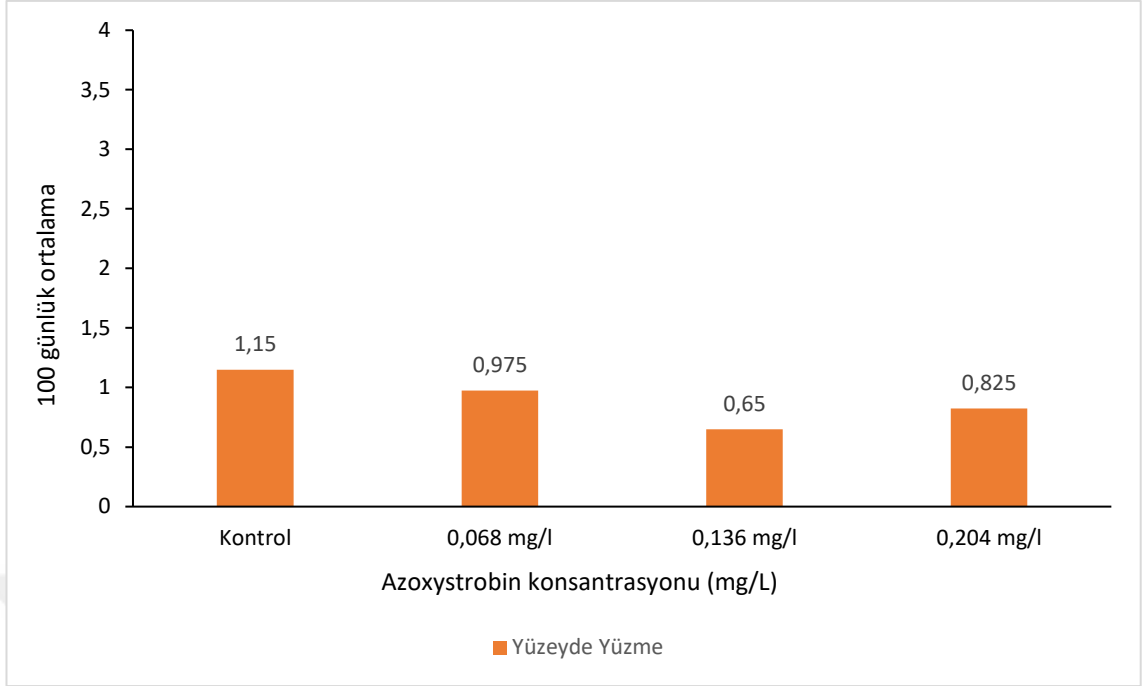
Kronik toksisite deneyinde 100 günün sonunda homojen dağılım parametresi azoxystrobin uygulanan balıklarda negatif kontrol grubuna göre artan konsantrasyonlarda akvaryumun her yerinde eşit dağılım göstermesi azalma göstermiştir. Negatif kontrol grubunda homojen dağılım parametresi toplam birey sayısının yarısından fazla sayıda gözlenmiştir fakat 100 günlük ortalama sonucunda tüm bireylerde gözlenmemiştir.

Uygulanan azoxystrobin konsantrasyonlarından en yüksek konsantrasyon olan 0,204 mg/L’ de ise yaklaşık olarak toplam birey sayısının yarısından fazla balık akvaryumun her yerinde eşit şekilde dağılım göstermiştir. Artan azoxystrobin konsantrasyonlarında homojen dağılım aktivitesi azalmıştır (Şekil 4.9).



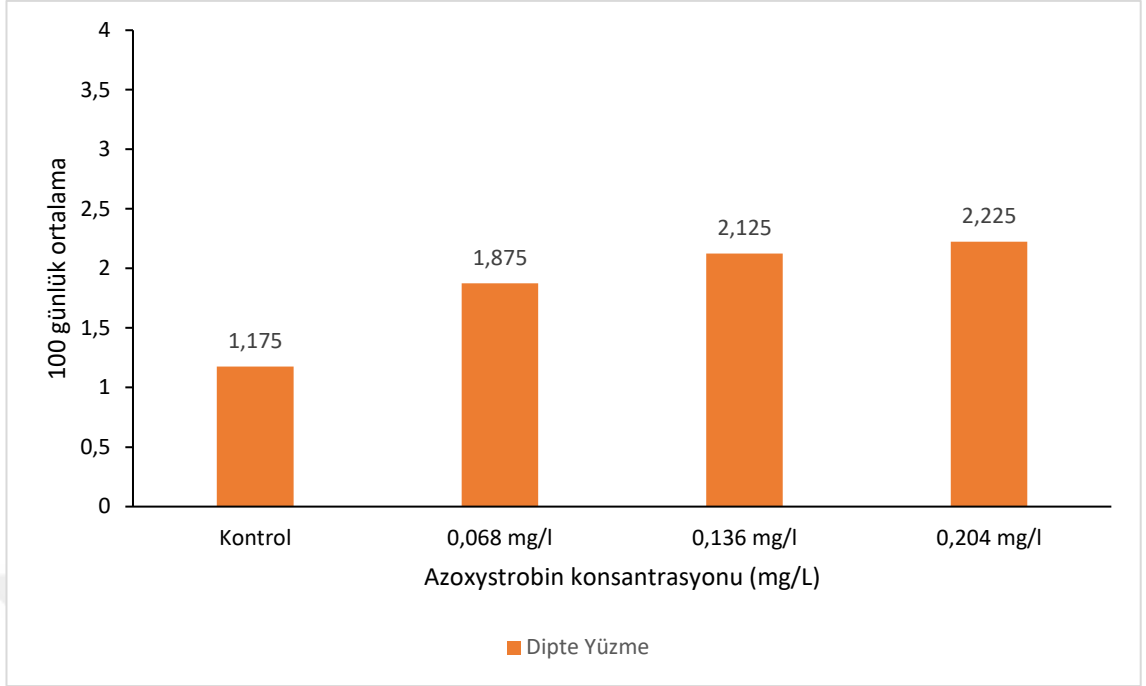
Şekil 4.10. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan *Gambusia holbrooki*’ nin kümelenme aktivitesi üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.

Kronik toksisite deneyinde 100 günün sonunda kümelenme parametresi azoxystrobin uygulanan balıklarda negatif kontrol grubuna göre artan konsantrasyonlarda akvaryumun bazı bölgelerinde grup olarak toplanması artış göstermiştir. Negatif kontrol grubunda kümelenme aktivitesi gözlenmemiştir. Uygulanan azoxystrobin konsantrasyonlarından en yüksek konsantrasyon olan 0,204 mg/L’ de ise yaklaşık olarak toplam birey sayısının yarısından az sayıda balık akvaryumun bazı bölgelerinde grup olarak toplanmıştır. 100 gün boyunca kümelenme aktivitesi akvaryumun farklı noktalarında gerçekleşmiştir. Artan azoxystrobin konsantrasyonlarında kümelenme aktivitesi artmıştır (Şekil 4.10).



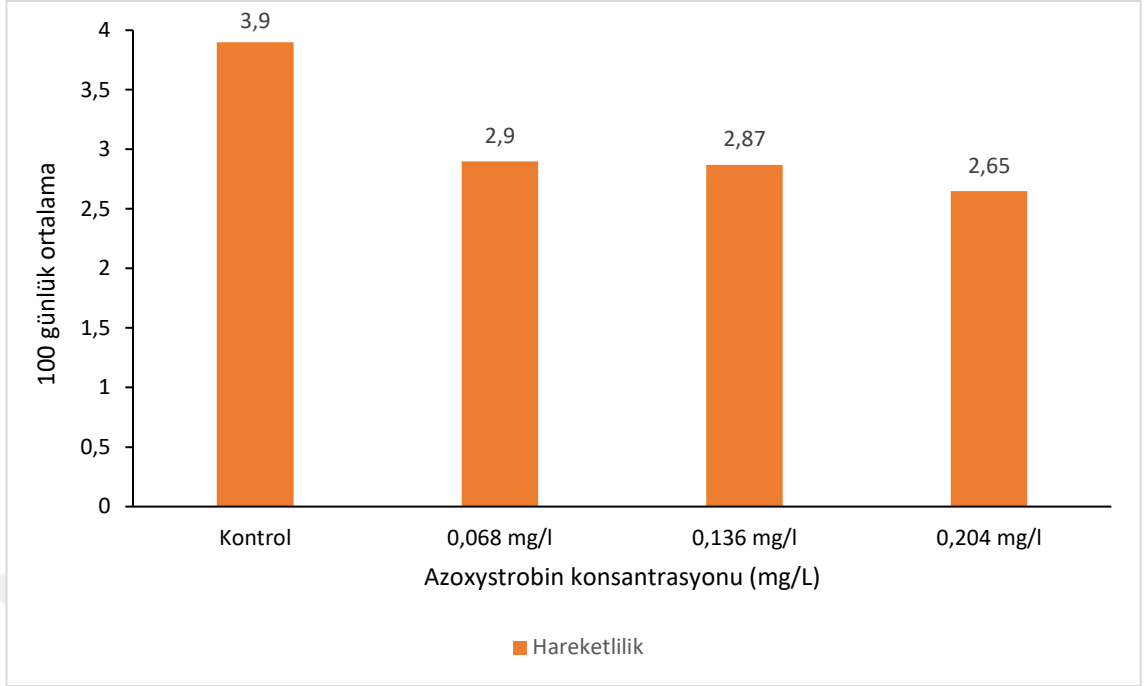
Şekil 4.11. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan *Gambusia holbrooki*'nin yüzeyde yüzme aktivitesi üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.

Kronik toksisite deneyinde 100 günün sonunda yüzeyde yüzme parametresi azoxystrobin uygulanan balıklarda negatif kontrol grubuna göre azalma göstermiş ancak artan konsantrasyonlarda doğru orantıda azalmamıştır. Balıkların su yüzeyinden 5 cm derinlikte bulunması durumuna göre 0,136 mg/L azoxystrobin uygulanan akvaryumdaki balıklarda en az yüzeye yakın yüzdükleri gözlenmiştir. Negatif kontrol grubunda ise su yüzeyine yakın yüzme aktivitesi en fazladır. Uygulanan azoxystrobin konsantrasyonlarında yüzeyde yüzme aktivitesi negatif kontrol grubuna göre azalırken artan konsantrasyon miktarına göre azalmamıştır (Şekil 4.11).



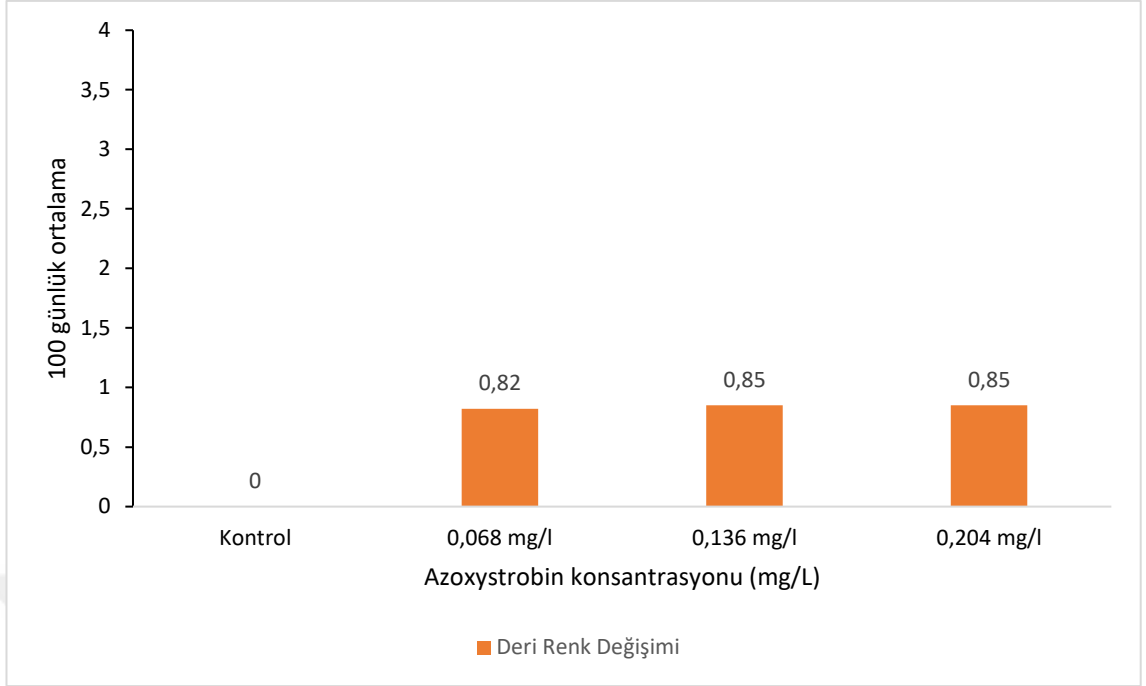
Şekil 4.12. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan *Gambusia holbrooki*' nin dipte yüzme aktivitesi üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.

Kronik toksisite deneyinde 100 günün sonunda dipte yüzme aktivitesi azoxystrobin uygulanan balıklarda negatif kontrol grubuna göre artan konsantrasyonlarda akvaryumun dibinde yüzme artış göstermiştir. Negatif kontrol grubunda dipte yüzme aktivitesi toplam birey sayısının yarısından az sayıda bireyde gözlenmiştir. Uygulanan azoxystrobin konsantrasyonlarından en yüksek konsantrasyon olan 0,204 mg/L' de ise yaklaşık olarak toplam birey sayısının yarısı akvaryumun dibinde yüzmüştür. Artan azoxystrobin konsantrasyonlarında dipte yüzme aktivitesi artmıştır (Şekil 4.12).



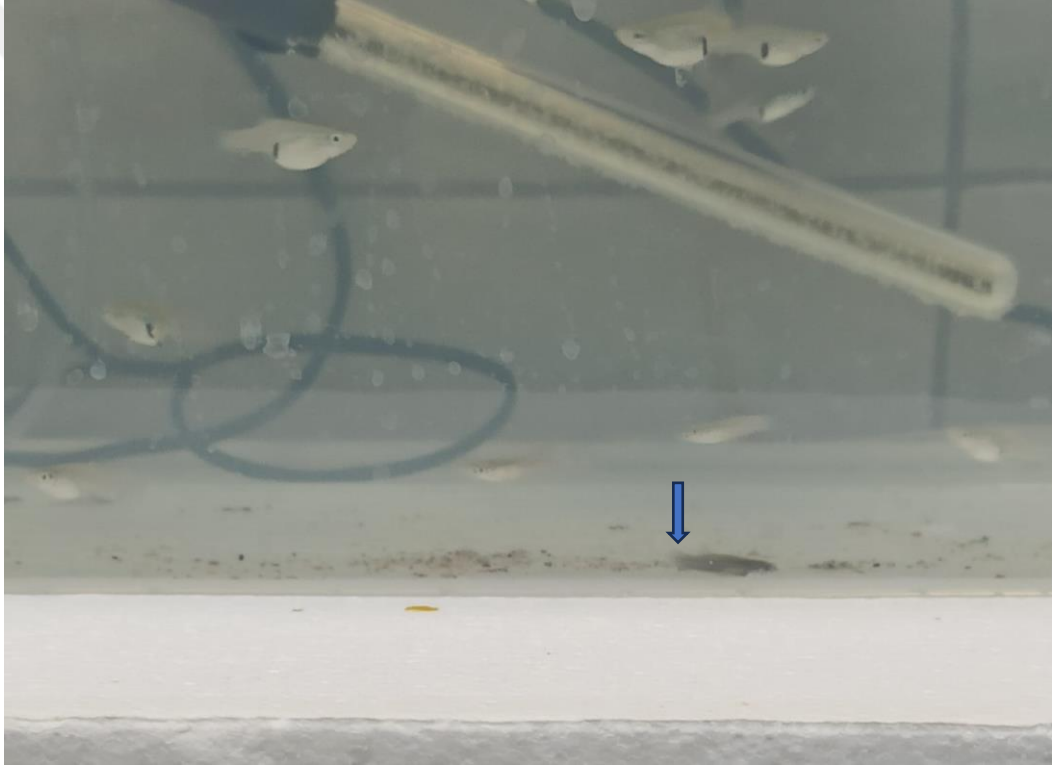
Şekil 4.13. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan *Gambusia holbrooki*' nin hareketlilik aktivitesi üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.

Kronik toksisite deneyinde 100 günün sonunda hareketlilik parametresi azoxystrobin uygulanan balıklarda negatif kontrol grubuna göre artan konsantrasyonlarda akvaryumun içerisinde aktif olarak yüzme durumu azalma göstermiştir. Negatif kontrol grubunda hareketlilik parametresi yaklaşık olarak tüm balıklarda gözlenmiştir fakat 100 günlük ortalama sonucunda tüm bireylerde gözlenmemiştir. Uygulanan azoxystrobin konsantrasyonlarından en yüksek konsantrasyon olan 0,204 mg/L' de ise yaklaşık olarak toplam birey sayısının yarısından fazla balık akvaryumun içerisinde aktif olarak yüzmüştür. Artan azoxystrobin konsantrasyonlarında hareketlilik azalmıştır (Şekil 4.13).

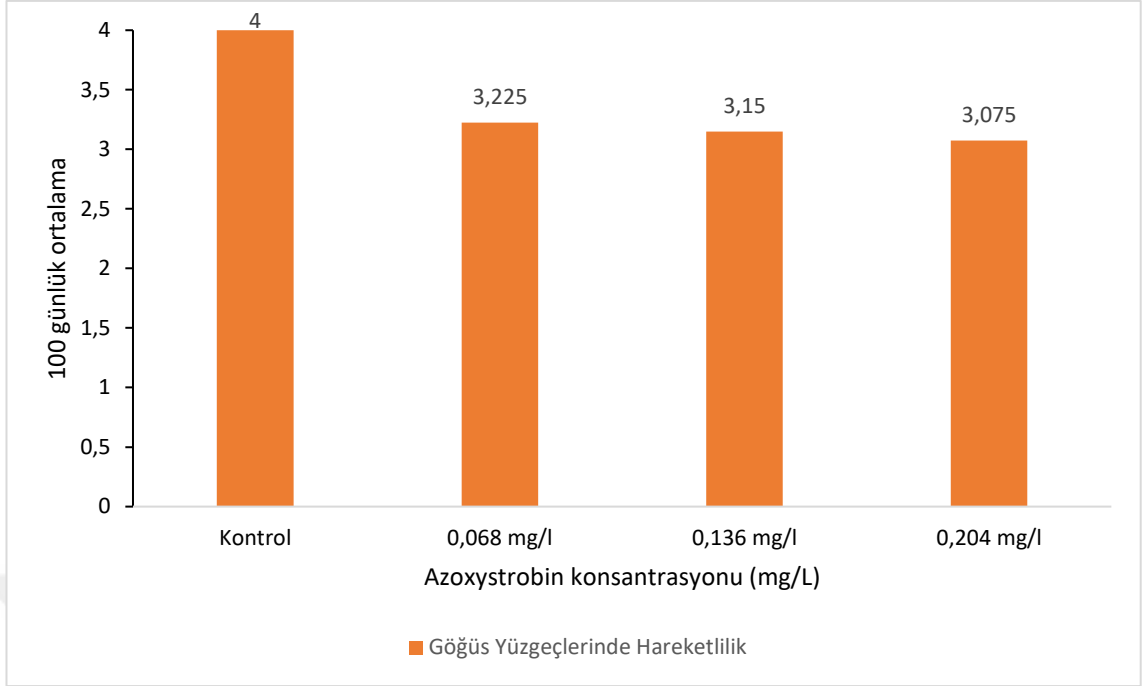


Şekil 4.14. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan *Gambusia holbrooki*'nin deri renk değişikliği üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.

Kronik toksisite deneyinde 100 günün sonunda deri renk değişimi parametresi azoxystrobin uygulanan balıklarda negatif kontrol grubuna göre artmıştır ancak 0,136 mg/L ve 0,204 mg/L konsantrasyonlarında sabit kalmıştır. Negatif kontrol grubunda ise deri renk değişimi gözlenmemiştir. Deri renk değişimi akvaryumda bulunan balıkların yarısından az sayıda gözlenmiştir (Şekil 4.15). Deri renk değişimi gözlenen balıklarda aynı zamanda hareketliliğin azaldığı ve dipte yüzme aktivitesi gözlenmiştir. Deri renk değişiminde balıkların sadece daha koyu renkli hale gelmiştir (Şekil 4.15). Uygulanan azoxystrobin konsantrasyonlarında deri renk değişimi negatif kontrol grubuna göre artarken 0,136 mg/L ve 0,204 mg/L konsantrasyon bulunan akvaryumlarda sabit kalmıştır (Şekil 4.14).

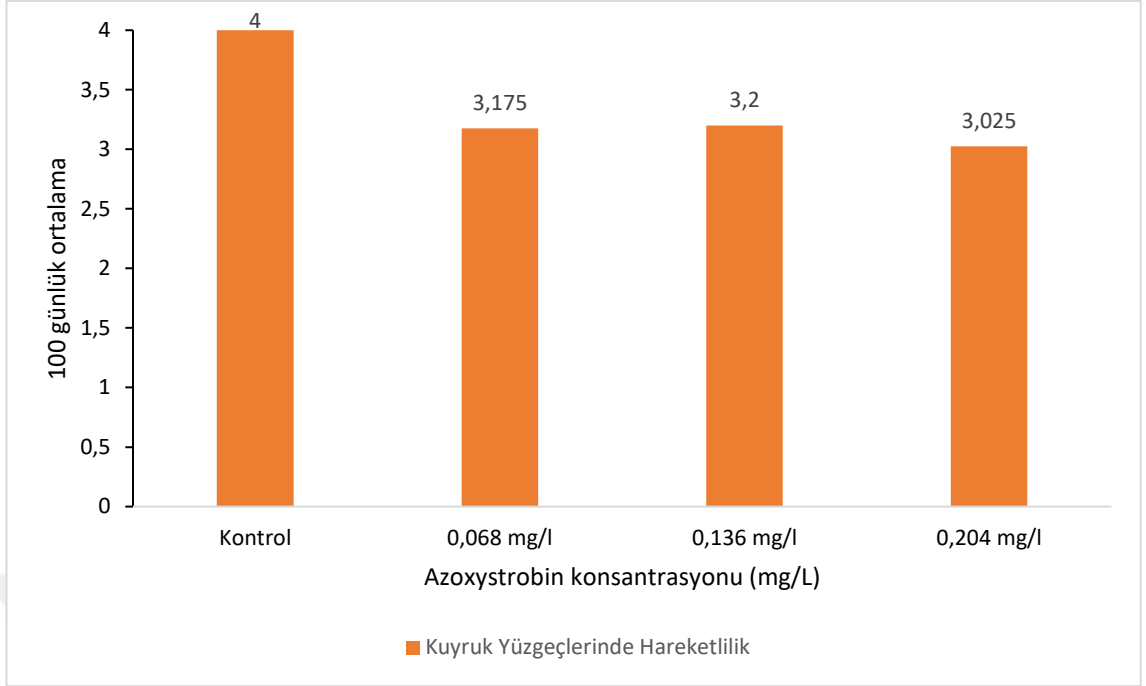


Şekil 4.15. Deri renk değişimi gözlenen *Gambusia holbrooki*.



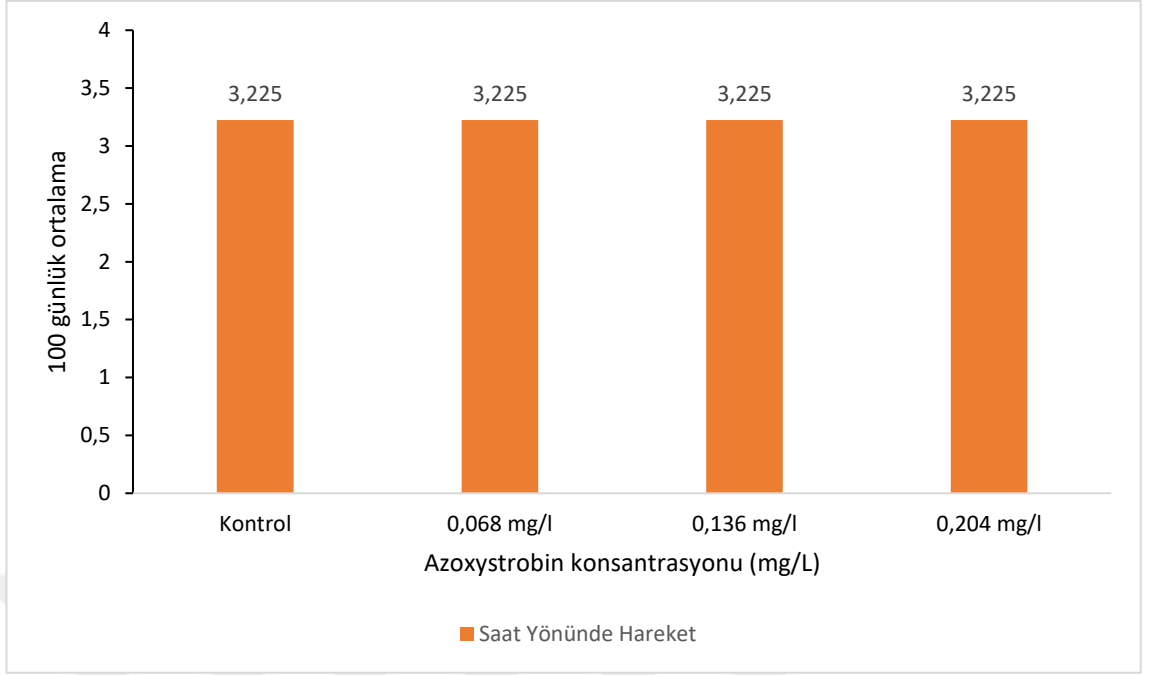
Şekil 4.16. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan *Gambusia holbrooki*' nin göğüs yüzgeçlerindeki hareketlilik aktivitesi üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.

Kronik toksisite deneyinde 100 günün sonunda göğüs yüzgeçlerinde hareketlilik parametresi azoxystrobin uygulanan balıklarda negatif kontrol grubuna göre azalmıştır. Negatif kontrol grubunda göğüs yüzgeçlerinde hareketlilik parametresi tüm balıklarda gözlenmiştir. Uygulanan azoxystrobin konsantrasyonlarından en yüksek konsantrasyon olan 0,204 mg/L' de ise yaklaşık olarak toplam birey sayısının yarısından fazla balık akvaryumun içerisinde aktif olarak göğüs yüzgeçlerinde hareketlilik aktivitesi gözlenmiştir. Artan azoxystrobin konsantrasyonlarında göğüs yüzgeçlerinde hareketlilik azalmıştır (Şekil 4.16).



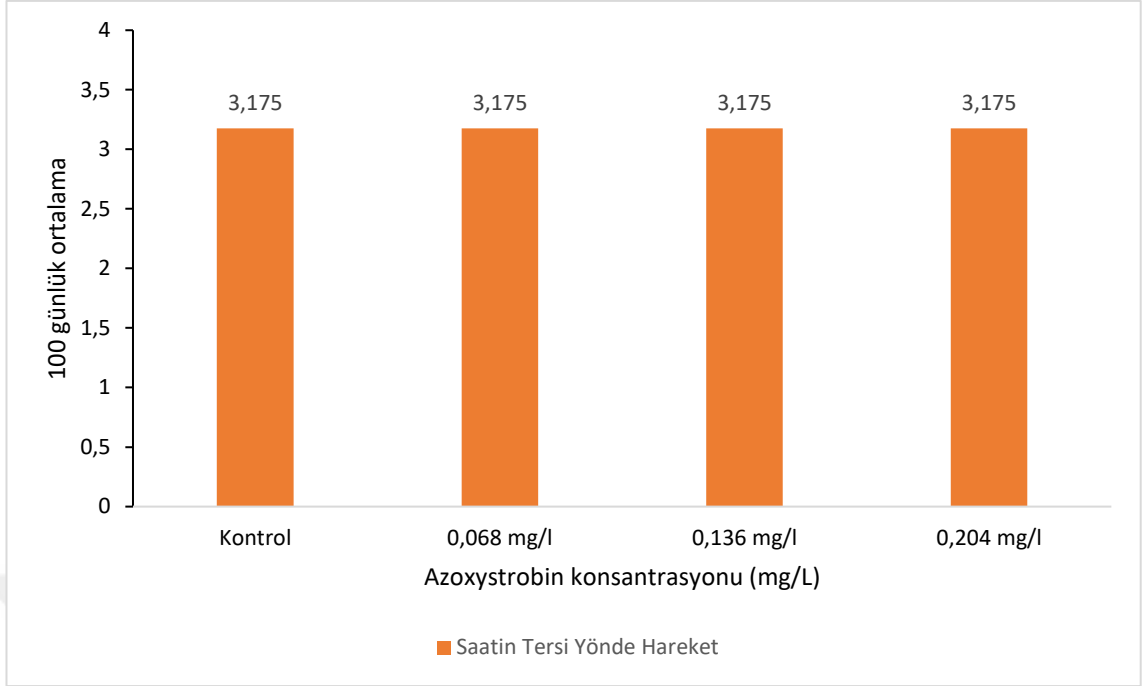
Şekil 4.17. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan *Gambusia holbrooki*'nin kuyruk yüzgeçlerindeki hareketlilik aktivitesi üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.

Kronik toksisite deneyinde 100 günün sonunda kuyruk yüzgeçlerindeki hareketlilik parametresi azoxystrobin uygulanan balıklarda negatif kontrol grubuna göre azalma göstermiştir. Negatif kontrol grubunda kuyruk yüzgeçlerindeki hareketlilik parametresi tüm balıklarda gözlenmiştir. Uygulanan azoxystrobin konsantrasyonlarından en yüksek konsantrasyon olan 0,204 mg/L' de ise yaklaşık olarak toplam birey sayısının yarısından fazla balıkta akvaryumun içerisinde aktif olarak kuyruk yüzgeçlerindeki hareketlilik aktivitesi gözlenmiştir. Artan azoxystrobin konsantrasyonlarında kuyruk yüzgeçlerindeki hareketlilik negatif kontrol grubundan sonra en çok 0,136 mg/L konsantrasyon bulunan akvaryumda de gözlenmiştir en az ise 0,204 mg/L konsantrasyon bulunan akvaryumda gözlenmiştir. Azoxystrobin uygulanan akvaryumlarda kuyruk yüzgeçlerindeki hareketlilik artan konsantrasyon miktarlarında önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Kuyruk yüzgeçlerindeki hareketlilik sadece negatif kontrol grubuna göre azaldığı gözlenmiştir (Şekil 4.17).



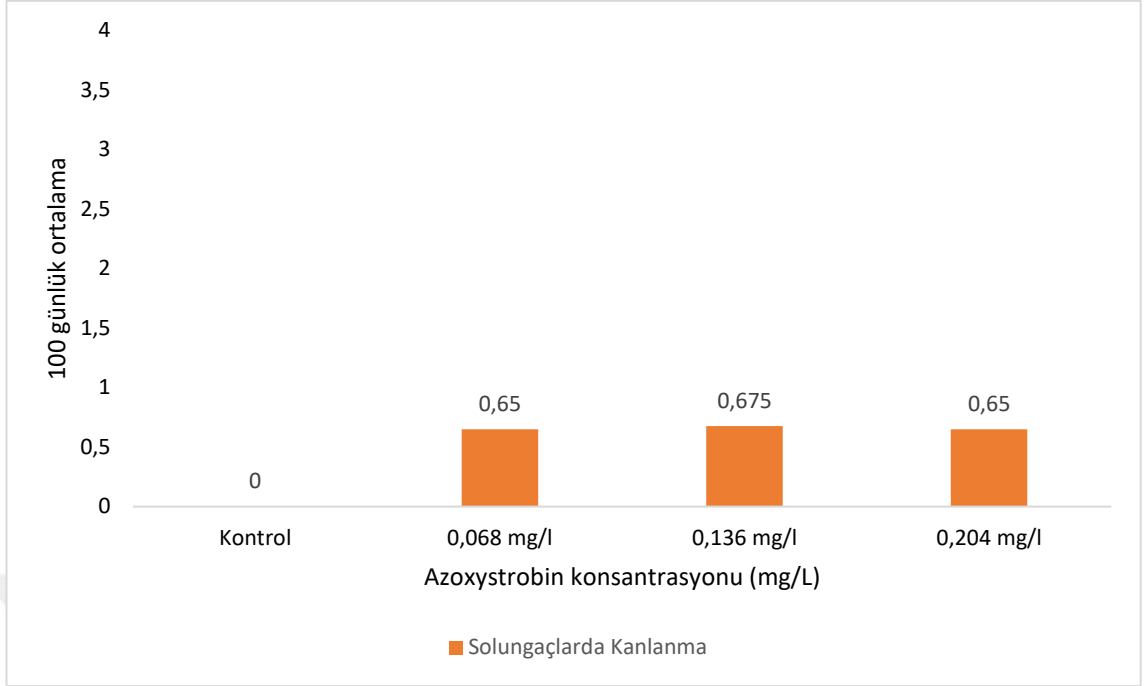
Şekil 4.18. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan *Gambusia holbrooki*' nin saat yönünde hareket aktivitesi üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.

Kronik toksisite deneyinde 100 günün sonunda saat yönünde hareket parametresi azoxystrobin uygulanan balıklarda negatif kontrol grubuna göre farklılık gözlenmemiştir. Negatif kontrol grubu ve azoxystrobin uygulanan akvaryumlarda toplam birey sayısının yarısından fazla balıkta saat yönünde hareket aktivitesi gözlenmiştir. Azoxystrobin uygulanan akvaryumlarda saat yönünde hareket aktivitesi artan konsantrasyon miktarlarında değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4.18).



Şekil 4.19. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan *Gambusia holbrooki*' nin saatin tersi yönde hareket aktivitesi üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.

Kronik toksisite deneyinde 100 günün sonunda saatin tersi yönde hareket parametresi azoxystrobin uygulanan balıklarda negatif kontrol grubuna göre farklılık gözlenmemiştir. Negatif kontrol grubu ve azoxystrobin uygulanan akvaryumlarda toplam birey sayısının yarısından fazla balıkta saatin tersi yönde hareket aktivitesi gözlenmiştir. Azoxystrobin uygulanan akvaryumlarda saatin tersi yönde hareket aktivitesi artan konsantrasyon miktarlarında değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4.19).

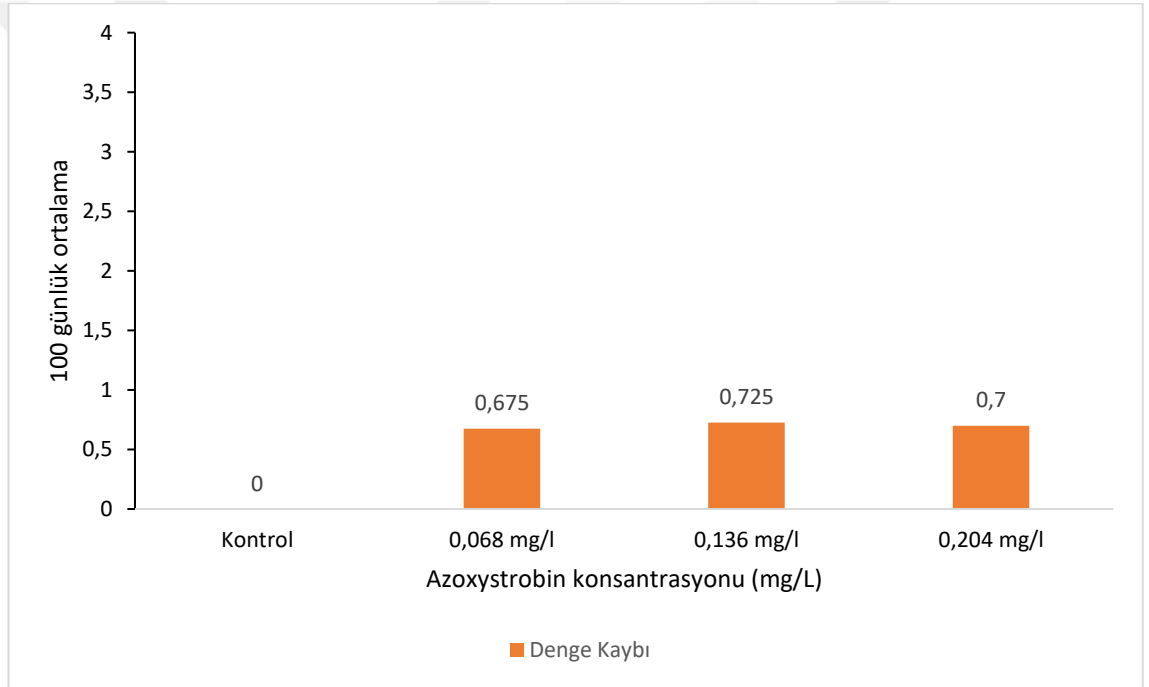


Şekil 4.20. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan *Gambusia holbrooki*' nin solungaçlarda meydana gelen kanlanma üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.

Kronik toksisite deneyinde 100 günün sonunda solungaçlarda kanlanma parametresi azoxystrobin uygulanan balıklarda negatif kontrol grubuna göre artmıştır ancak 0,068 mg/L ve 0,204 mg/L konsantrasyonlarında aynıdır. Negatif kontrol grubunda ise solungaçlarda kanlanma gözlenmemiştir. Solungaçlarda kanlanma akvaryumda bulunan balıkların yarısından az sayıda gözlenmiştir (Şekil 4.21). Uygulanan azoxystrobin konsantrasyonlarında solungaçlarda kanlanma negatif kontrol grubuna göre artarken en yüksek 0,136 mg/L konsantrasyonda gözlenirken 0,068 mg/L ve 0,204 mg/L konsantrasyon bulunan akvaryumlarda sabit kalmıştır (Şekil 4.20).



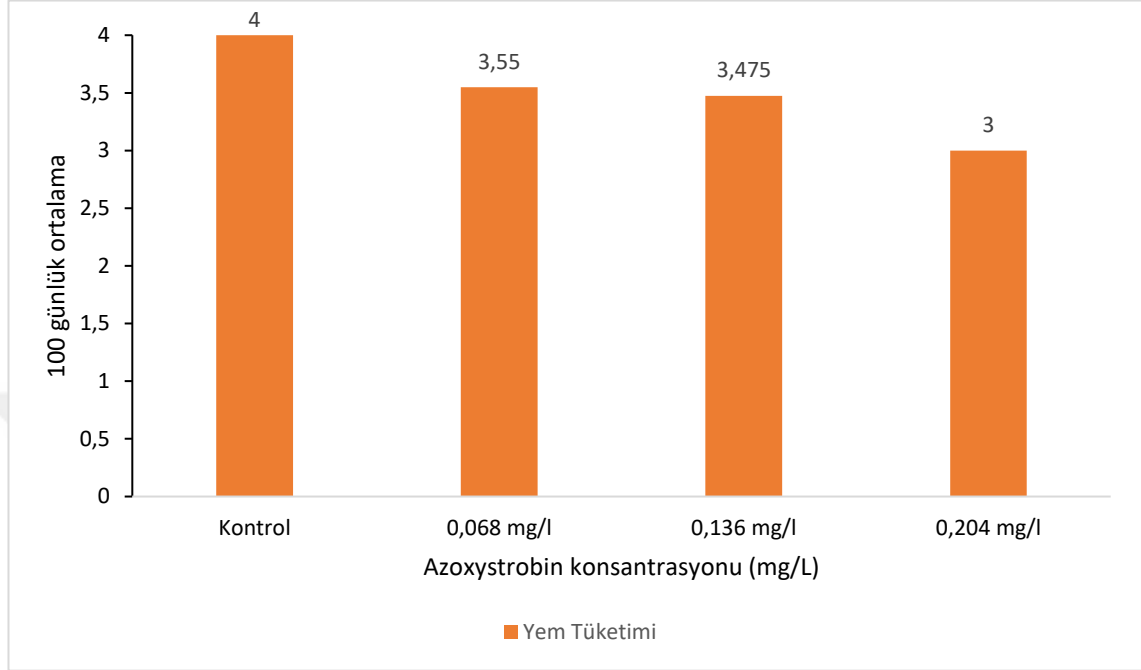
Şekil 4.21. Solungaçlarda kanlanma gözlenen *Gambusia holbrooki*.



Şekil 4.22. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan *Gambusia holbrooki*' nin denge kaybı üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.

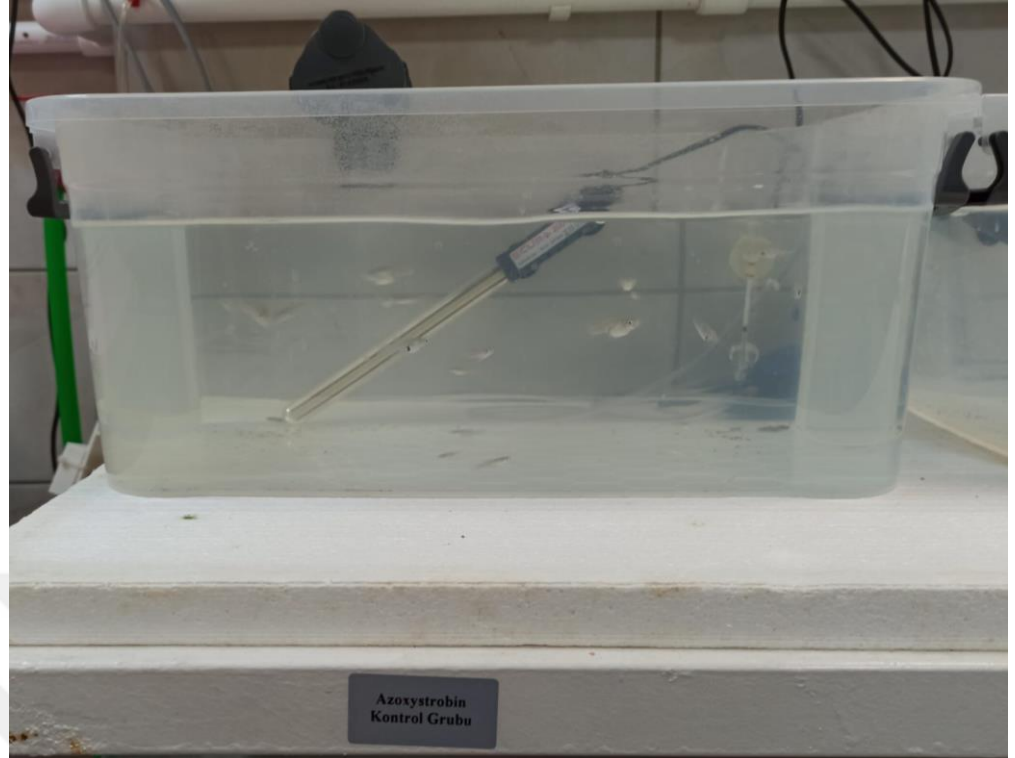
Kronik toksisite deneyinde 100 günün sonunda denge kaybı parametresi azoxystrobin uygulanan balıklarda negatif kontrol grubuna göre artmıştır ancak 0,136 mg/L azoxystrobin uygulanan akvaryumda yaşanan denge kaybı 0,068 mg/L ve 0,204 mg/L azoxystrobin uygulanan akvaryumlardan daha fazladır. Negatif kontrol grubunda ise denge kaybı gözlenmemiştir. Denge kaybı gözlenen akvaryumlarda bulunan balıkların yarısından az sayıda balıkta gözlenmiştir.

Uygulanan azoxystrobin konsantrasyonlarında denge kaybı negatif kontrol grubuna göre artarken en yüksek 0,136 mg/L konsantrasyonda gözlenmiştir (Şekil 4.22).

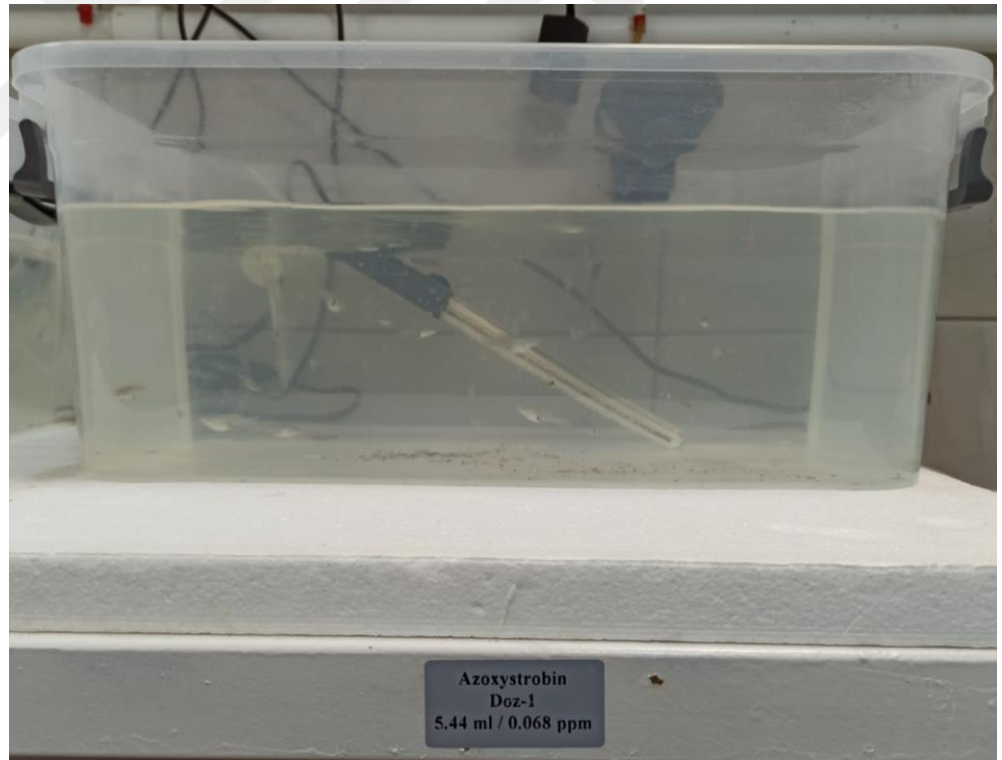


Şekil 4.23. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan *Gambusia holbrooki*' nin yem tüketimi üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.

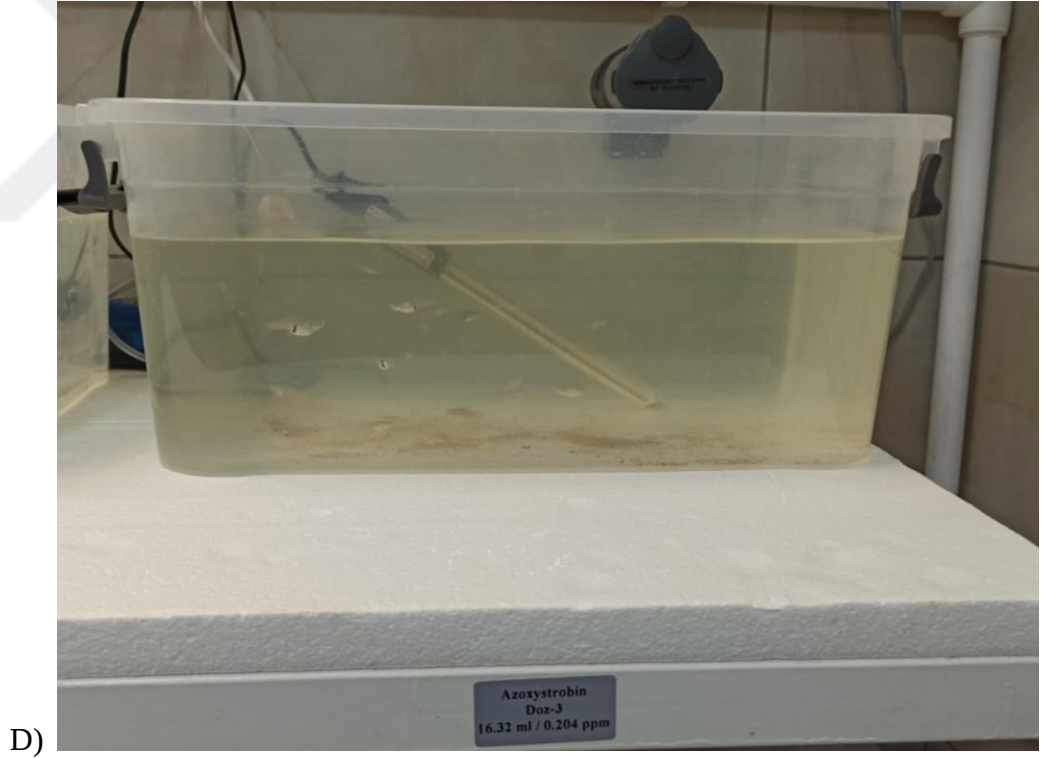
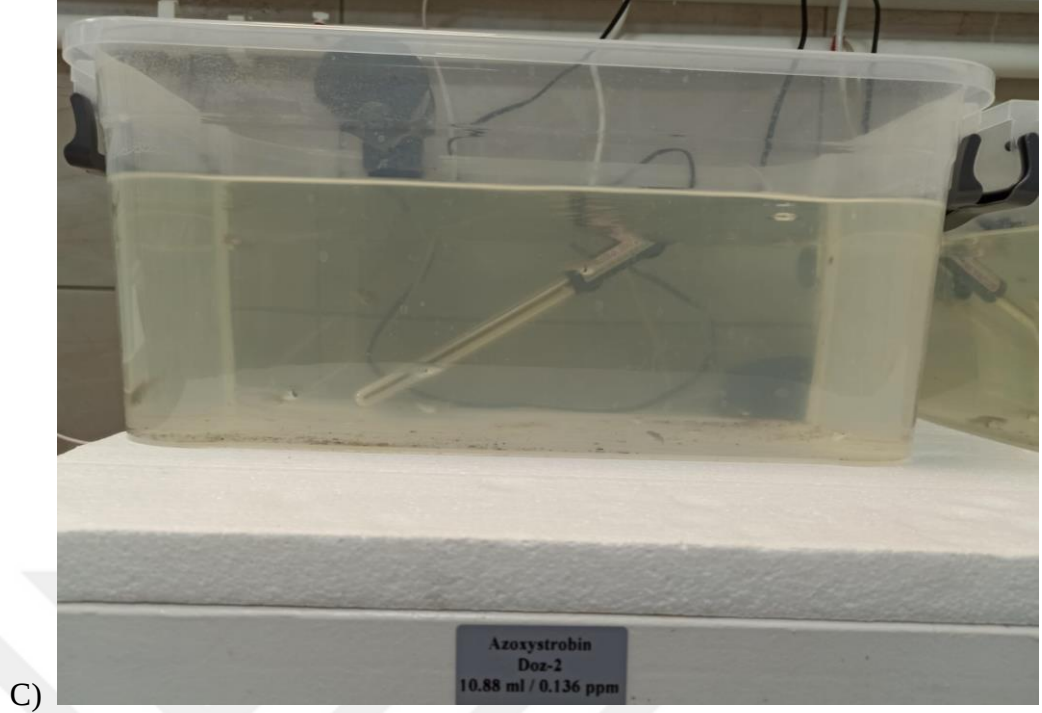
Kronik toksisite deneyinde 100 günün sonunda yem tüketimi parametresi her gün düzenli olarak gözlem saatinde otomatik yemleyiciden dökülen yeme karşı balıkların yeme davranışı ve su dibine çöken yem miktarına bağlı olarak değerlendirilmiş olup azoxystrobin uygulanan balıklarda negatif kontrol grubuna göre akvaryumda dibe çöken yem miktarı artış göstermiştir (Şekil 4.23) ve buna bağlı olarak yem tüketmeyen balıklar gözlenmiştir. Negatif kontrol grubunda yem tüketimi tüm balıklarda gözlenmiştir. Uygulanan azoxystrobin konsantrasyonlarından en yüksek konsantrasyon olan 0,204 mg/L' de ise toplam birey sayısının yarısından fazla balıkta yem tüketimi gözlenmiştir. Artan azoxystrobin konsantrasyonlarında yem tüketimi negatif kontrol grubundan sonra en çok 0,068 mg/L konsantrasyon bulunan akvaryumda da gözlenmiştir en az ise 0,204 mg/L konsantrasyon bulunan akvaryumda gözlenmiştir. Artan azoxystrobin konsantrasyonlarında yem tüketimi azalmıştır (Şekil 4.24).



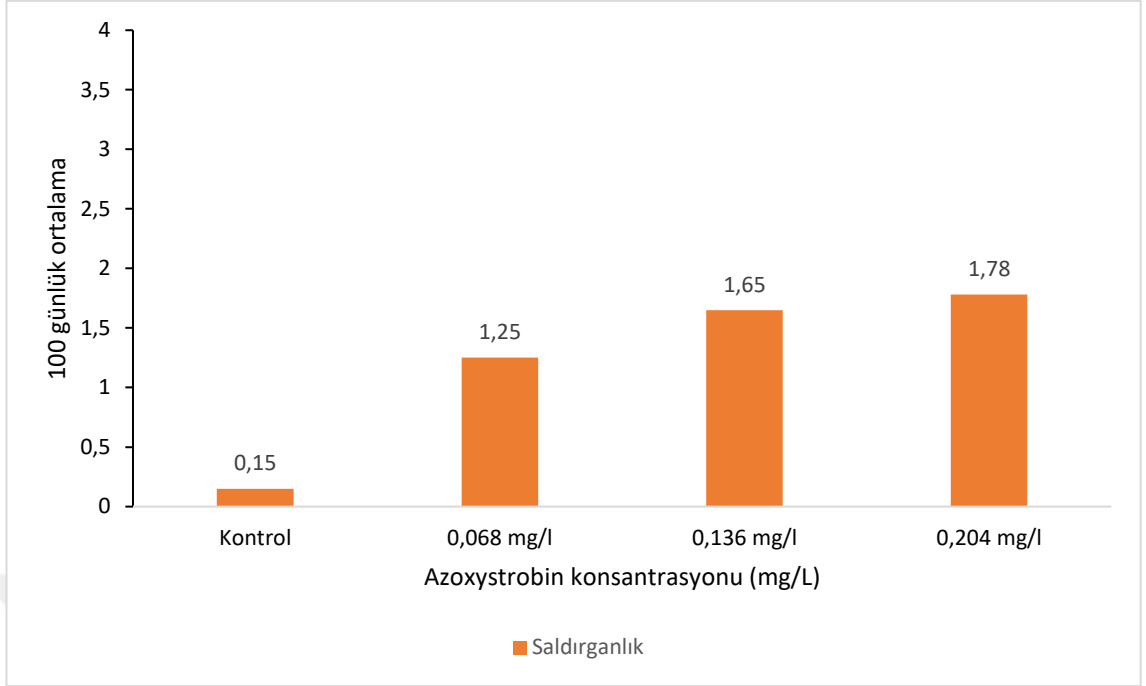
A)



B)

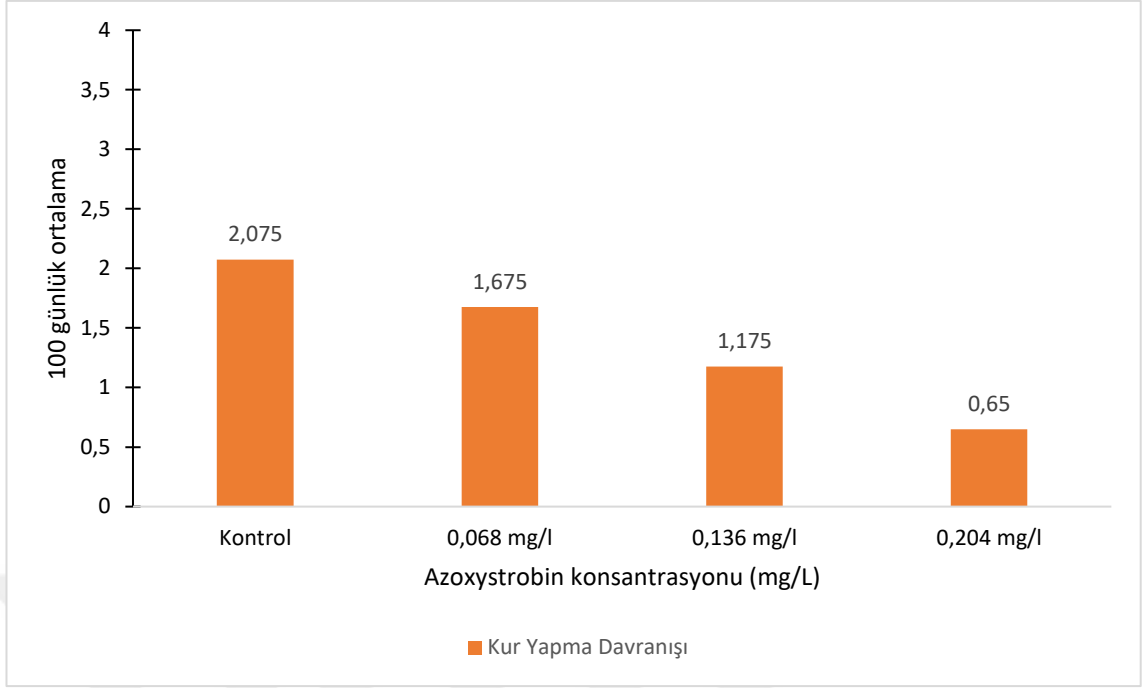


Şekil 4.24. Her 10 gün sonunda deney suyu değiştirilmeden önce akvaryumlarda tüketilmeyen yem miktarlarının konsantrasyona bağlı değişimi (A şeklinden D şekline akvaryumda artış gösteren yem kalıntıları).



Şekil 4.25. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan *Gambusia holbrooki*' nin saldırganlık üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.

Kronik toksisite deneyinde 100 günün sonunda saldırganlık aktivitesi azoxystrobin uygulanan balıklarda negatif kontrol grubuna göre artan konsantrasyonlarda artış göstermiştir. Negatif kontrol grubunda saldırganlık aktivitesi toplam birey sayısının yarısından az sayıda bireyde sadece bazı günlerde gözlenmiştir. Uygulanan azoxystrobin konsantrasyonlarından en yüksek konsantrasyon olan 0,204 mg/L' de ise yaklaşık olarak toplam birey sayısının yarısında saldırganlık aktivitesi gözlenmiştir. Artan azoxystrobin konsantrasyonlarında saldırganlık aktivitesi artmıştır (Şekil 4.25).



Şekil 4.26. Farklı azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan *Gambusia holbrooki*'nin kur yapma davranışı üzerindeki 100 günlük süre ile kronik etkisi.

Kronik toksisite deneyinde 100 günün sonunda kur yapma davranışı azoxystrobin uygulanan balıklarda negatif kontrol grubuna göre azalmıştır. Negatif kontrol grubunda bulunan toplam birey sayısının yarısında erkek bireylerin dişi bireylere yakın yüzdüğü dişinin genital açıklığına yakın ve tam olarak yöneldiği gözlenmiştir. Uygulanan azoxystrobin konsantrasyonlarından en yüksek konsantrasyon olan 0,204 mg/L' de ise yaklaşık olarak toplam birey sayısının yarısından az sayıda balık kur yapma davranışı sergilemiştir. Artan azoxystrobin konsantrasyonlarında kur yapma davranışı azalmıştır (Şekil 4.26).

Tüm kronik parametreler dikkat alındığında artan azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan *Gambusia holbrooki*'de negatif kontrol grubuna kıyasla balıklarda homojen dağılım, yüzeyde yüzme, hareketlilik, göğüs yüzgeçlerinde hareketlilik, kuyruk yüzgeçlerinde hareketlilik, yem tüketimi ve kur yapma davranışı parametreleri azalma eğilimi gösterirken; kümelenme, dipte yüzme, deri renk değişimi, solungaçlarda kanlanma, denge kaybı, saldırganlık artma eğilimi göstermektedir. Saat yönünde hareket ve saatin tersi yönde hareketler ise artan konsantrasyon gruplarında negatif kontrol grubuna göre değişmemiştir.

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Bu çalışmada tarım arazilerinde bitki patojeni funguslara karşı kullanılan ve akuatik ekosistemlerde toksik etki yapan azoxystrobinin *Gambusia holbrooki* (Girard, 1859) üzerinde 24, 48, 72 ve 96 saatlik LC₅₀ değeri belirlenmiş ve azoxystrobinin LC₅₀ değerinin %5, %10 ve %15 konsantrasyonlarında bazı kronik etkiler değerlendirilmiştir.

Çalışma kapsamında strobilurin grubu azoxystrobin fungusitinin ticari formülasyonu olan Ferbis Cilia® (250 g/L Azoxystrobin) fungusitinin negatif kontrol grubu, 1,0 mg/L, 1,3 mg/L, 1,5 mg/L ve 1,8 mg/L konsantrasyonlarının 24, 48, 72 ve 96 saat sürelerle *Gambusia holbrooki* (Girard, 1859) üzerindeki akut toksisitesi probit analiz yöntemine göre tespit edilmiştir.

Belirlenen 24 saatlik öldürücü azoxystrobin konsantrasyonu LC₅₀ ortalama değeri 2,551 mg/L alt sınır ortama değeri 2,006 mg/L ve üst sınır ortama değeri 3,244 mg/L, 48 saatlik LC₅₀ ortalama değeri 1,952 mg/L alt sınır ortama değeri 1,669 mg/L ve üst sınır ortama değeri 2,284 mg/L, 72 saatlik LC₅₀ ortalama değeri 1,567 mg/L alt sınır ortama değeri 1,431 mg/L ve üst sınır ortama değeri 1,714 mg/L ve 96 saatlik LC₅₀ ortalama değeri 1,362 mg/L alt sınır ortama değeri 1,247 mg/L ve üst sınır ortama değeri 1,487 mg/L olarak tespit edilmiştir.

Azoxystrobinin subletal konsantrasyonlarının *Gambusia holbrooki* (Girard, 1859) bireylerinde farklı konsantrasyonlara bağlı homojen dağılım, kümelenme, yüzeyde yüzme, dipte yüzme, hareketlilik, göğüs yüzgeçlerinde hareketlilik, kuyruk yüzgeçlerinde hareketlilik, saat yönünde hareket, saatin tersi yönde hareket, denge kaybı, yem tüketimi, saldırganlık ve kur yapma davranışı gibi bazı davranışsal; deri renk değişimi ve solungaçlarda kanlanma gibi parametreler üzerindeki etkisinin araştırıldığı bu çalışmada artan azoxystrobin konsantrasyonlarında maruz bırakılan *Gambusia holbrooki*'de negatif kontrol grubuna kıyasla balıklarda homojen dağılım, yüzeyde yüzme, hareketlilik, göğüs yüzgeçlerinde hareketlilik, kuyruk yüzgeçlerinde hareketlilik, yem tüketimi ve kur yapma davranışı parametreleri azalma eğilimi gösterirken; kümelenme, dipte yüzme, deri renk değişimi, solungaçlarda kanlanma, denge kaybı, saldırganlık artma eğilimi göstermiştir. Saat yönünde hareket ve saatin tersi yönde hareketler ise artan konsantrasyon gruplarında negatif kontrol grubuna göre değişmemiştir. Gözlemlenen bazı kronik etkilerin zamana bağlı olarak artış gösterdiği saptanmıştır. Fiziksel ve davranışsal aktivitelerin zamana ve konsantrasyona göre artışı azoxystrobinin olumsuz etkilere sahip olabileceği potansiyel toksik etkili olduğu göstermektedir.

Çizelge 5.1. Azoxystrobinin farklı balık türleri için 96 saatlik LC₅₀ değerleri.

Tür	LC ₅₀ (mg/L)	Kaynak
<i>Danio rerio</i> (Zebra balığı)	1,0800	(Mu vd., 2017)
<i>Sparus aurata</i> (Çipura)	0,7290	(Rodrigues vd., 2015)
<i>Cyprinodon variegatus</i> (Koyunbaşı yavru balık)	0,6700	(Rodrigues, 2016)
<i>Grass carp</i> (Ot sazani)	0,5490	(Liu vd., 2013)
<i>Pethia conchonius</i> (Gül barbus)	0,5140	(Ray vd., 2023)
<i>Australoheros facetus</i> (Bukalemun çiklit)	0,0500	(Li vd., 2021)
<i>Lepomis macrochirus</i> (Güneşli)	0,0011	(Rodrigues, 2016)

Azoxystrobin ile ilgili olarak, sucul toksisiteye ilişkin veriler sınırlıdır (Çizelge 5.1). Bu çalışmada, *Gambusia holbrooki*'de 96 saatte LC₅₀ değeri 1,362 mg/L olarak hesaplanan azoxystrobinin, diğer araştırmacıların gösterdiği LC₅₀ değeri aralığındadır. Azoxystrobinin balıklarda akut toksisitesi üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Liu vd., 2013), ot sazanı (*Ctenopharyngodon idella*) yavrularındaki azoxystrobinin 48 saatlik LC₅₀ değerini 0,549 mg/L olarak belirlemiştir (Jiang vd., 2018), zebra balığının gelişim evrelerindeki azoxystrobinin 96 saatlik LC₅₀ değerlerini larva, embriyonik, juvenil ve yetişkin formlarında sırasıyla 0,777 mg/L, 0,810 mg/L, 0,987 mg/L ve 1,080 mg/L olarak bildirmiştir (Mu vd., 2017), zebra balığının üç gelişim evresinde azoxystrobinin 96 saatlik akut toksisitesinin larva, embriyo ve yetişkinlerde sırasıyla 0,39 mg/L, 0,61 mg/L ve 1,37 mg/L olduğunu göstermiştir; bu değerler yetişkin aşaması hariç Jiang ve arkadaşlarının bulgularından daha düşüktür (Jiang vd., 2018).

Azoxystrobinin etkisi kordalı olmayanlarda da incelenmiştir. *Daphnia magna*'da 96 saatlik LC₅₀ değeri 0,31 mg/L olarak rapor edilmiştir (Ochoa-Acuña vd., 2009).

Statik bir sistemde *Lymnea luteola*'da 96 saatlik azoxystrobin maruziyetinde ortalama LC₅₀ değeri 0,79 mg/L olarak belirlendi (Ali vd., 2021). İlginç bir şekilde kerevitlerde (*Astacus leptodactylus*) azoxystrobin 'in 96 saatlik LC₅₀ değeri 1656 mg/L gibi çok yüksek bir değerde rapor edilmiştir (Uçkun & Öz, 2021).

Yukarıda belirtildiği gibi farklı organizmalarda azoxystrobinin LC₅₀ değerindeki farklılıklar, uygulama süresine ve organizmaların yaşam evresine ve ayrıca diğer faktörlere göre değişmektedir.

Literatürde *Gambusia holbrooki* (Girard, 1859) için LC₅₀ konsantrasyonları ve davranışlarını inceleyen sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu nedenle karşılaştırmada diğer strobilurin grubu fungusitlerin farklı balıklar üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmalardan yararlanılmıştır. Strobilurin grubu fungusitler üzerine yapılan çalışmalarda balıklar başta olmak üzere diğer suda yaşayan canlılar üzerinde toksik etkili olabileceği belirtilmiştir (Morrison vd., 2013; Pandey & Rathore, 2023; Rouabhi, 2010; Warming vd., 2009). Benzer şekilde azoxystrobin fungusitinin dahil olduğu strobilurin grubu fungusitleri ile yapılan akut toksisite testlerine ilişkin yayınlar bulunmaktadır.

Çizelge 5.2. Strobilurin grubu fungusitlerin farklı balık türlerinin erginleri için 96 saatlik LC₅₀ değerleri.

Strobilurinler	Tür	LC ₅₀ (mg/L)	Kaynak
Mancozeb	<i>Pethia ticto</i> (Tikto barb)	12,950	(Srivastava & Singh, 2013)
Mancozeb	<i>Oreochromis mossambicus</i> (Tilapya)	11,680	(Saha vd., 2016)
Azoxystrobin	<i>Danio rerio</i> (Zebra balığı)	1,080	(Mu vd., 2017)
Fluoksastrobin	<i>Danio rerio</i> (Zebra balığı)	0,510	(Zhang vd., 2018)
Kresoksim-metil	<i>Danio rerio</i> (Zebra balığı)	0,496	(Jiang vd., 2019)
Piraklostrobin	<i>Danio rerio</i> (Zebra balığı)	0,056	(Zhang vd., 2012)
Trifloksistrobin	<i>Lepomis macrochirus</i> (Güneşli)	0,054	(Belden vd., 2010)
Piraklostrobin	<i>Lepomis macrochirus</i> (Güneşli)	0,011	(Cusaac vd., 2016)
Piraklostrobin	<i>Oncorhynchus mykiss</i> (Gökkuşluğu alabalığı)	0,006	(Zhang vd., 2012)

Strobilurin fungusitleri bilimsel olmayan üretimi ve kötüye kullanılmasıyla toprak ve su ekosistemlerindeki kalıntıları çevresel zararlara yol açabilmektedir. Toksikoloji çalışmaları, bunların çevredeki kalıntılarının ekolojik riskler taşıdığını göstermiştir. Mevcut toksikoloji çalışmaları daha çok akut veya kronik toksisiteye odaklanmıştır. Bu nedenle, strobilurin fungusitlerinin toprak ve suda yaşayan organizmalara yönelik potansiyel toksisitesi giderek daha fazla dikkat çekmektedir. Ancak bu fungusitlerin su ve toprak ekosistemlerine olan toksisitesi hakkındaki bilgiler yetersizdir. Genel olarak, tatlı su balık türleri için strobilurinlerin toksisiteleri Çizelge 5.2'ye göre sırası şu şekildedir: Piraklostrobin > trifloksistrobin > kresoksim-metil > kresoksim-metil > fluoksastrobin > Azoxystrobin > Mancozeb, mitokondriyal toksisiteye ek olarak, çalışmalar aynı zamanda genotoksisite, immünotoksisite, kardiyotoksisite, nörotoksisite ve endokrin bozulmayı da rapor etmektedir (Jiang vd., 2018).

Bu olayların her biri potansiyel olarak gelişim, üreme ve davranış gibi tüm organizma düzeyindeki süreçleri etkileyebilir. Yapılan çalışmalar azoxystrobinin endokrin bozucu olarak hareket edebileceğini göstermektedir (Cao vd., 2016; Jiang vd., 2018; X. Wang vd., 2021).

Ray ve vd. (2023), *Pethia conchonius* (Gül Barbus) üzerinde azoxystrobinin 96 saatlik LC₅₀ değerini 0,514 mg/L olarak tespit etmiştir ve genotoksik etkilerini Micronucleus (Gavrilescu vd.) ve Comet analizleri kullanarak değerlendirmiştir. Yaptığı değerlendirmeler sonucunda azoxystrobinin balıklarda oldukça genotoksik olduğunu ve ciddi DNA hasarına neden olduğunu güçlü bir şekilde göstermiştir (Ray vd., 2023).

Wang ve vd. (2021), *Danio rerio* (Zebra balığı)'yu 96 saat boyunca azoxystrobin, kresoksim-metil, piraklostrobin ve trifloksistrobine maruz bırakarak yaptıkları akut toksisite sonucunda azoxystrobinin 0,6840 mg/L, kresoksim-metilin 0,1540 mg/L, piraklostrobinin 0,0303 mg/L ve trifloksistrobinin LC₅₀ değerlerini 0,0550 mg/L olarak tespit etmiştir (X. Wang vd., 2021).

Wang ve vd. (2021), *Oncorhynchus mykiss* (Gökkuşluğu alabalığı)'u 96 saat boyunca azoxystrobin, kresoksim-metil, piraklostrobin ve trifloksistrobine maruz bırakarak yaptıkları akut toksisite sonucunda azoxystrobinin 0,47000 mg/L, kresoksim-metilin 0,19000 mg/L, piraklostrobinin 0,00620 mg/L ve trifloksistrobinin LC₅₀ değerlerini 0,01400 mg/L olarak tespit etmiştir (S. Wang vd., 2021).

Liu ve vd. (2013), yaygın olarak kullanılan strobilurin grubu fungusitlerinin trifloxystrobin, azoxystrobin ve kresoxim-methyl akut toksisitesini değerlendirmek amacıyla *Ctenopharyngodon idella* (Ot sazanı) üzerinde gerçekleştirdikleri 48 saatlik akut toksisite sonucu trifloxystrobinin 0,051 mg/L, azoxystrobinin 0,549 mg/L ve kresoxim-methylin 0,338 mg/L olarak tespit etmiştir (Liu vd., 2013).

Cao ve vd. (2019), *Danio rerio* (Zebra balığı) ebeveynlerini 0,2 mg/L azoxystrobin maruz bırakarak gerçekleştirdiği çalışmada *Danio rerio* (Zebra balığı) embriyolarında ölümcül etkilere ve gelişimsel bozulmaya neden olduğunu ortaya konmuştur. Bu veriler toksisitenin bir şekilde aktarıldığını göstermektedir (Cao vd., 2019).

Warming ve vd. (2009), *Daphnia magna* (Su piresi) 'nın azoxystrobin'e karşı duyarlılığını incelemek için yapmış olduğu çalışmada 48 saatlik LC₅₀ değerini 0,277 mg/L olarak tespit etmiştir. Ayrıca, solunum ölçümleri ve yaşam tablosu deneyleri için *Daphnia magna* (Su piresi)' yı ekolojik olarak uygun bir konsantrasyon olan 0.000026 mg/L' ye maruz bırakmış ve ölümcül olmayan stresin var olduğu göstermiştir. Bu sonuçlara dayanarak, daha önce düşünüldenden çok daha düşük azoxystrobin konsantrasyonlarında *Daphnia magna* (Su piresi) popülasyonlarında değişiklikler bekleyebiliriz. Bu nedenle, tarım alanlarındaki göletler, çok düşük azoxystrobin konsantrasyonlarında bile besin ağı yapısında değişiklikler meydana gelebilir (Warming vd., 2009).

Wang ve vd. (2020), *Chlorella vulgaris* (Tatlı su yosunu) üzerinde piraklostrobin kumoksistrobin ve azoxystrobinin 96 saatlik akut toksisitesini değerlendirmiş. *C. vulgaris* için azoxystrobin, piraklostrobin ve kumoksistrobinin 96 saatlik EC₅₀ değerlerini sırasıyla 1,85, 2,21 ve 1,62 mg/L olarak tespit etmiştir. Üç strobilurin grubu fungisitinin *C. vulgaris* üzerindeki akut toksisitesini şu sırayla ortaya koymuştur: kumoksistrobin > azoxystrobin > piraklostrobin (X. Wang vd., 2020).

Bu sonuçlar, strobilurinlerin su ekosistemlerine girdiklerinde alg sağlığını tehdit edebileceğini göstermektedir; bu nedenle alglere yönelik riski daha iyi anlamak için toksisitelerini daha fazla araştırmak gerekir.

Uçkun ve Öz (2021), *Astacus leptodactylus* (Doğu Avrupa kereviti) üzerinde azoxystrobinin 96 saatlik akut toksisitesini çeşitli biyobelirteçler kullanılarak incelenmiştir. Kerevitleri 96 saat boyunca LC₅₀ konsantrasyonu 1656 mg/L ve bunun üç alt konsantrasyonu 828mg/L, 414mg/L ve 207 mg/L azoxystrobin konsantrasyonlarına maruz bırakmıştır. 96 saatlik maruziyet sonucu kerevitlerde hepatopankreas, solungaç ve kas dokularında süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri kontrole göre anlamlı derecede artmıştır. Hepatopankreada asetilkolinesteraz ve glutatyon S-transferaz aktiviteleri artarken, glutatyon redüktaz aktivitesinin önemli ölçüde azaldığını tespit etmiştir (Uçkun & Öz, 2021).

Wang ve vd. (2021), Strobilurin grubu fungusitlerinden olan piraklostrobin, kresoxim-methyl, trifloxystrobin ve azoxystrobin yaptıkları bir çalışmada, *Rana chensinensis* (kurbağa) ve *Limnodrilus hoffmeisteri* (kırmızı solucan) 24,48,72 ve 96 saatlik akut toksisitesi değerlendirilmiş olup karşılaştırma yapmıştır. Yapılan karşılaştırma sonucu piraklostrobinin *R. chensinensis* (kurbağa) üzerinde yapılan 96 saatlik LC₅₀ değeri 0,00548 mg/L ile en büyük toksisiteye sahip olduğunu ve azoxystrobinin ise 96 saatlik LC₅₀ değeri 0,435 mg/L ile en düşük toksisiteye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Öte yandan, trifloksistrobin ve azoxystrobin 96 saat maruz bırakılan *L. hoffmeisteri* (kırmızı solucan) ise trifloksistrobin için 0,063 mg/L ile 'ye karşı en büyük toksisiteye sahip olduğunu tespit etmiştir. Azoxystrobinin ise *L. hoffmeisteri* üzerinde 96 saatlik LC₅₀ değeri en az toksisiteye sahip olduğunu ve 5,36 mg/L olarak hesaplamıştır (X. Wang vd., 2021).

Jiang ve vd. (2018), *Danio rerio* (Zebra balığı) üzerinde yaptığı kronik deneyler sonucunda strobilurinlerin potansiyel endokrin bozucular olduğunu ve suda yaşayan organizmalarda gelişim ve üreme süreçlerini etkilediğini tespit etmiştir (Jiang vd., 2018).

Benzer şekilde *Gambusia holbrooki* üzerinde yaptığımız çalışmada da azoxystrobin maruz kalan bireylerde ölü doğumlar olduğu ve kur yapma davranışının azaldığı saptanmıştır.

Baatrup ve Junge (2001), *Poecilia reticulata* (Lepistes) üzerinde yaptıkları subletal deney sonucunda vinklozin ve DDT' ye maruz bırakılan deney gruplarında yer alan erkek bireylerde testislerin küçülerek sperm sayılarının azaldığını, kur yapma davranışlarında ciddi bozulmalar meydana geldiğini ve deri renk değişimi olduğunu tespit etmiştir (Baatrup & Junge, 2001).

Benzer şekilde *Gambusia holbrooki* üzerinde yaptığımız çalışmada da azoxystrobin maruz kalan bireylerde kur yapma davranışının azaldığı ve bazı bireylerde deri renk değişiminin gözlemlendiği saptanmıştır.

Nwani ve vd. (2013), *Tilapia zillii* (Kırmızı karınlı tilapia) üzerinde yaptığı subletal deney sonucunda butachlor' a maruz bırakılan deney gruplarında negatif kontrol grubuna kıyasla anormal davranış ve yüzme değişiklikleri olduğunu bildirmiştir (Nwani vd., 2013).

Benzer şekilde *Gambusia holbrooki* üzerinde yaptığımız 100 günlük azoxystrobine maruz kalan bireylerde anormal davranış ve yüzme değişiklikleri gözlenmiştir.

Aynı tür organizmalarda birbirine benzer lethal konsantrasyonlar gözlenebilir. Örneğin *D. rerio* ve *O. mykiss* aynı türün aynı hedef reseptörlerle aynı fizyolojik yapıya sahip olması, balık türleri arasında aynı veya benzer toksik mekanizma ve toksisite değerlerine yol açacaktır. Benzer şekilde *Gambusia holbrooki* üzerinde yaptığımız çalışmada da azoxystrobine maruz kalan bireylerde 96 saatlik LC₅₀ değerini 1,362 mg/L alt sınır ortama değeri 1,247 mg/L ve üst sınır ortama değeri 1,487 mg/L olarak tespit edilmiştir. Diğer balıklar üzerinde yapılan akut toksisite test sonuçları ile paralellik göstermektedir. *R. chensinensis* ve *L. hoffmeisteri* ise amfibi ve yumuşakçalar grubunda yer almaktadır. Balıklarla karşılaştırıldığında hepsi hayvandır ancak farklı fizyolojik yapıya sahiptirler ve bu da nispeten farklı toksisite değerlerine neden olur.

D. magna ve *C. vulgaris* 'in balıklardan çok farklı LC₅₀ değerlerinin görülmesi şaşırtıcı değildir. Çünkü biri su piresi grubunda, diğeri ise alg grubundadır. Balık ve amfibilerle karşılaştırıldığında bu iki türün çok farklı fizyolojik yapıya ve hedef reseptörlere sahip olması, farklı toksisite değerlerine ve toksik mekanizmalara yol açmaktadır.

Fungisitler balık metabolizmasının farklı pestisit türlerine göre doğrudan etkilemektedir. Balıklarda davranış değişiklikleri, hematolojik değişiklikler, histopatolojik bozukluklar, biyokimyasal modifikasyonlar, endokrin sistem bozulması, antioksidan savunma sistemindeki değişiklikler ve asetilkolin esterase aktivitesinin değişmesi gibi farklı toksisite türlerine neden olurlar (Choudhury, 2018; Du vd., 2018; Gao vd., 2014; Li vd., 2019).

Genel olarak, azoxystrobin ve diğer strobilurin fungisitler tatlısu balıkları için potansiyel bir risk taşıyabilir. Toksisite düzeyleri, ürün formülasyonları ve uygulama yöntemlerine bağlı olarak değişebilir. Bu nedenle bu tür kimyasalların kullanımı sırasında çevresel etkileri ve balıkların korunmasını sağlamak için ilgili yönetmeliklere ve kullanım talimatlarına dikkat etmek önemlidir. Strobilurin fungisitlerinin toksik etkisini azaltmak için biyopestisitlerin ve doğal ürünlerin kullanımı teşvik edilmelidir. Zararlıların biyokontrolü, sentetik tarım kimyasallarına kıyasla akıllıca bir seçim olacaktır.

Sudaki pestisit kalıntısı, suda yaşayan organizmalar üzerinde olumsuz etkilere neden olabileceğinden büyük ekolojik ve halk sağlığı açısından endişe vericidir (Du vd., 2018; Jia vd., 2018; Lu, 2018). Strobilurin grubu pestisit olan azoxystrobin, mitokondriyal solunum elektron taşınmasını bozarak fungusları olumsuz yönde etkiler (Tomlin, 1881).

Uzun süreli fungusite maruz kalma; fizyolojik, davranışsal, hematolojik ve histopatolojik değişikliklere, biyokimyasal değişikliklere, bağışıklık baskılanmasına, hormon bozulmasına, üreme anormalliklerine ve kanserlere neden olur (Du vd., 2018; Gao vd., 2014; Li vd., 2019).

Çalışmamızda deney düzeneği, davranışsal tepkileri konusunda mümkün olduğunca gerçekçi sonuçlar elde etmek amacıyla denemeler sırasında balıkların manipülasyonunu en aza indirecek şekilde tasarlanmıştır. Azoxystrobine maruz kalan *Gambusia holbrooki* verdiği ilk tepkiler dipte yüzme ve kümelenme ve buna takiben denge kaybı olmuştur. Azoxystrobine karşı bir kaçınma davranışı olarak değerlendirilebilir. Bu tepki korku veya kaygıyla ilişkili yırtıcı karşıtı bir davranış olarak yorumlanabilir. Kronik deney sırasında azoxystrobine maruz kalan sivrisinek balığı gruplarının fizyolojik değişimler yaşandığı, lokomotor aktivitesinin açıkça etkilendiğini, balıkların hareketsiz görüldüğü ve su yüzeyine yakın durduğu gözlemlendi. Ancak azoxystrobine maruz kalan sivrisinek balığı gruplarının saat yönü ve saat yönünün tersi yöndeki aktiviteleri negatif kontrol grubundakilerden anlamlı bir farklılık göstermedi.

Strobilurin grubundaki fungusitler benzer akut toksisite özellikleri gösterebilir. Bunlar arasında konsantrasyonlarına ve maruziyet süresine bağlı olarak solungaç tahrişi, ölüm ve davranışsal değişiklikler gibi etkiler görülebilir. Azoxystrobinin toksik etkisinin vücut yüzeyine temas ettikten sonra epidermise nüfuz etmesi ve akabinde deride kararmaya neden olduğu düşünülmektedir. Azoxystrobine maruz kalan balıkların solungaç boşluklarının mukusla dolduğu ve lamellerin koyu kırmızı renkte olduğu incelenmiş; solungaç lamellerinin yok edilmesi, ventilasyon oranının düşmesine ve kan hipoksisine sebebiyet verdiği ve bu nedenle kanlanma görüldüğü düşünülmektedir.

G. holbrooki (Girard, 1859) azoxystrobin konsantrasyonuna maruz bırakılması kur yapma davranışını azalttı ve saldırgan davranışı artırdı.

Balıkların üreme davranışı, su ortamındaki endokrin bozucu kimyasalların ekotoksikolojik etkilerini değerlendirmek için önemli bir parametredir (Jones & Reynolds, 1997). Önceki çalışmalar, çevresel kirlетici maddelere maruz kalmanın balıklarda çiftleşme süresini ve sıklığını önemli ölçüde azalttığını, dolayısıyla üreme davranışını engellediğini göstermiştir (Huang vd., 2015; Li vd., 2022). Bu nedenle balıkların üreme davranışlarının değerlendirilmesini temel parametrelerdir. Hem erkek hem de dişi sivrisinek balığının kur yapma davranışının, 100 gün boyunca azoxystrobine maruz kaldıktan sonra önemli ölçüde azaldığı görülmüştür.

Tüm kronik parametreler için kronik toksik etki açısından homojen dağılım, yüzeyde yüzme, hareketlilik, göğüs yüzgeçlerinde hareketlilik, kuyruk yüzgeçlerinde hareketlilik, yem tüketimi, kur yapma davranışı, kümelenme, dipte yüzme, deri renk değişimi, solungaçlarda kanlanma, denge kaybı ve saldırganlık parametreleri kronik toksisite için en uygun parametreler olduğu belirlendi. Saat yönünde hareket ve saatin tersi yönde hareketler ise değişmediği için kronik toksisite değerlendirmesi için uygun olmadığı sonucuna varılmıştır.

Bu araştırmada değişimleri gözlenen kronik parametrelerden solungaçlardaki kanlanmanın azoxystrobin kaynaklı olduğu ve bu durumun solunum güçlüğü oluşturduğu düşünülmektedir, hem operkulum-ağız hareketliliğini arttırdığı hem de hareketlilik aktivitesini kısıtladığı söylenebilir. Aynı zamanda solunum yetersizliği ve enzim fonksiyonunun bozulması neticesinde deneyin ilerleyen safhalarında balıkların yüzme hareketliliğinin azalması ve akvaryum dip kısmında konumlanmasının anlamlı olduğu düşünülmektedir. Gözlenen birçok davranışsal ve fiziksel değişimin konsantrasyona bağlı olarak ortaya çıktığı gözlenmiştir.

Kronik değişimler, sucul toksikoloji çalışmalarına giderek daha fazla dahil edilmektedir ve geliştirilmiş deneysel tasarımlarla birlikte güvenilir ve tekrarlanabilir analizlere ihtiyaç vardır. İdeal olarak bu analizler, çok çeşitli balık türlerinde, özellikle de etkilenen su yollarında yaşayan model olmayan türlerde davranışsal etkileri standart bir şekilde test etmeye uygun olacaktır. Bu nedenle, azoxystrobine maruz kalmanın balık hareketi üzerindeki etkilerine ilişkin daha gerçekçi sonuçlar elde etmek için, davranışsal analizlerin, örneklerin en az 100 günlük gözlemlere tabi tutulmasından sonra yapılmasını öneriyoruz.

Literatürdeki sınırlı çalışmalar göz önüne alındığında, azoxystrobinin *Gambusia holbrooki* ve diğer tatlı su balıkları üzerindeki etkileri hakkında daha fazla bilgi edinmek önemlidir. Bu nedenle, çalışma sonuçları, bu strobilurin grubu fungusitlerinin sucul türler üzerindeki risk değerlendirmesi verilerine önemli katkılar sağlayabilir. Benzer çalışmalar, çeşitli organizmaların belirli bir maddeye karşı duyarlılığını ölçerek potansiyel ekolojik riskleri değerlendirebilir ve çevrenin korunması için uygun stratejiler için veri oluşturabilir.

Sonuç olarak strobilurin grubu azoxystrobin toksisitesine ilişkin yaptığımız çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlar, *Gambusia holbrooki*'nin azoxystrobine karşı hassas olduğu ve mortalitenin konsantrasyona ve zamana bağlı artan bir toksik etkisi olduğu sonucunu desteklemektedir. Bu çalışma aynı zamanda kronik parametrelerin önemini de göstermektedir. Strobilurin grubu fungusitlerin etken maddelerinin konsantrasyonlara bağlı toksik etkilerinin daha iyi anlaşılması, fungusitlerin daha kontrollü bir şekilde kullanılmasına katkı sağlamayı amaçlamaktadır.

KAYNAKLAR

- Abdel-Moneim, A. M., Al-Kahtani, M. A., & Elmenshawy, O. M. (2012). Histopathological biomarkers in gills and liver of *Oreochromis niloticus* from polluted wetland environments, Saudi Arabia. *Chemosphere*, 88(8), 1028-1035.
- Ali, D., Ibrahim, K. E., Hussain, S. A., & Abdel-Daim, M. M. (2021). Role of ROS generation in acute genotoxicity of azoxystrobin fungicide on freshwater snail *Lymnaea luteola* L. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 5566-5574.
- Altenhofen, S., Nabinger, D. D., Wiprich, M. T., Pereira, T. C. B., Bogo, M. R., & Bonan, C. D. (2017). Tebuconazole alters morphological, behavioral and neurochemical parameters in larvae and adult zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 180, 483-490.
- Anke, T., Oberwinkler, F., Steglich, W., & Schramm, G. (1977). The strobilurins-new antifungal antibiotics from the basidiomycete *Strobilurus tenacellus* (Pers. ex Fr.) Sing. *The Journal of Antibiotics*, 30(10), 806-810.
- Baatrup, E., & Junge, M. (2001). Antiandrogenic pesticides disrupt sexual characteristics in the adult male guppy *Poecilia reticulata*. *Environmental health perspectives*, 109(10), 1063-1070.
- Baćmaga, M., Kucharski, J., & Wyszowska, J. (2015). Microbial and enzymatic activity of soil contaminated with azoxystrobin. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187, 1-15.
- Balba, H. (2007). Review of strobilurin fungicide chemicals. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 42(4), 441-451.
- Bartett, D. W., Clough, J. M., Godfrey, C. R., Godwin, J. R., Hall, A. A., Heaney, S. P., & Maund, S. J. (2001). Understanding the strobilurin fungicides. *Pesticide Outlook*, 12(4), 143-148.
- Bartlett, D. W., Clough, J. M., Godwin, J. R., Hall, A. A., Hamer, M., & Parr-Dobrzanski, B. (2002). The strobilurin fungicides. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 58(7), 649-662.
- Battaglin, W. A., Sandstrom, M. W., Kuivila, K. M., Kolpin, D. W., & Meyer, M. T. (2011). Occurrence of azoxystrobin, propiconazole, and selected other fungicides in US streams, 2005–2006. *Water, Air, & Soil Pollution*, 218(1), 307-322.
- Belden, J., McMurtry, S., Smith, L., & Reilley, P. (2010). Acute toxicity of fungicide formulations to amphibians at environmentally relevant concentrations. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(11), 2477-2480.
- Bending, G. D., Lincoln, S. D., & Edmondson, R. N. (2006). Spatial variation in the degradation rate of the pesticides isoproturon, azoxystrobin and diflufenican in soil and its relationship with chemical and microbial properties. *Environmental pollution*, 139(2), 279-287.
- Bjergager, M.-B. A., Hanson, M. L., Solomon, K. R., & Cedergreen, N. (2012). Synergy between prochloraz and esfenvalerate in *Daphnia magna* from acute and subchronic exposures in the laboratory and microcosms. *Aquatic toxicology*, 110, 17-24.

- Bony, S., Gillet, C., Bouchez, A., Margoum, C., & Devaux, A. (2008). Genotoxic pressure of vineyard pesticides in fish: field and mesocosm surveys. *Aquatic toxicology*, 89(3), 197-203.
- Boudina, A., Emmelin, C., Baaliouamer, A., Paisse, O., & Chovelon, J. (2007). Photochemical transformation of azoxystrobin in aqueous solutions. *Chemosphere*, 68(7), 1280-1288.
- Brodeur, J. C., Poliserpi, M. B., & Sánchez, M. (2014). Synergy between glyphosate-and cypermethrin-based pesticides during acute exposures in tadpoles of the common South American Toad *Rhinella arenarum*. *Chemosphere*, 112, 70-76.
- Cao, F., Li, H., Zhao, F., Wu, P., Qian, L., Huang, L., Pang, S., Martyniuk, C. J., & Qiu, L. (2019). Parental exposure to azoxystrobin causes developmental effects and disrupts gene expression in F1 embryonic zebrafish (*Danio rerio*). *Science of the total environment*, 646, 595-605.
- Cao, F., Wu, P., Huang, L., Li, H., Qian, L., Pang, S., & Qiu, L. (2018b). Short-term developmental effects and potential mechanisms of azoxystrobin in larval and adult zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic toxicology*, 198, 129-140.
- Cao, F., Zhu, L., Li, H., Yu, S., Wang, C., & Qiu, L. (2016). Reproductive toxicity of azoxystrobin to adult zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental pollution*, 219, 1109-1121.
- Capriglione, T., De Iorio, S., Gay, F., Capaldo, A., Vaccaro, M., Morescalchi, M., & Laforgia, V. (2011). Genotoxic effects of the fungicide thiophanate-methyl on *Podarcis sicula* assessed by micronucleus test, comet assay and chromosome analysis. *Ecotoxicology*, 20, 885-891.
- Casida, J. E., & Durkin, K. A. (2017). Pesticide chemical research in toxicology: lessons from nature. *Chemical Research in Toxicology*, 30(1), 94-104.
- Chastain, J., ter Halle, A., de Sainte Claire, P., Voyard, G., Traikia, M., & Richard, C. (2013). Phototransformation of azoxystrobin fungicide in organic solvents. Photoisomerization vs. photodegradation. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 12, 2076-2083.
- Choudhury, N. (2018). Ecotoxicology of aquatic system: a review on fungicide induced toxicity in fishes. *Pro Aqua Farm Marine Biol*, 1(1), 180001.
- Coats, J., Symonik, D., Bradbury, S., Dyer, S., Timson, L., & Atchison, G. (1989). Toxicology of synthetic pyrethroids in aquatic organisms: an overview. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 8(8), 671-679.
- Commission, E. (1998). Review Report for the active substance azoxystrobin finalised in the Standing Committee on the Food Chain and Animal Health at its meeting on 22.4. 1998 in view of the inclusion of azoxystrobin in Annex I of Directive 91/414/EEC.
- Cusaac, J. P. W., Morrison, S. A., Belden, J. B., Smith, L. M., & McMurry, S. T. (2016). Acute toxicity of Headline® fungicide to Blanchard's cricket frogs (*Acris blanchardi*). *Ecotoxicology*, 25, 447-455.
- Çayır, A., Coskun, M., & Coskun, M. (2014). Micronuclei, nucleoplasmic bridges, and nuclear buds induced in human lymphocytes by the fungicide signum and its active ingredients (boscalid and pyraclostrobin). *Environmental toxicology*, 29(7), 723-732.

- Çebi, Ü., Çakır, R., & Tok, H. H. (2019). Tarla koşullarında uygulanan trifluralin herbisidinin toprakta taşınımı ve birikimi. *Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Dergisi*, 7(1), 1-9.
- Çebi, Ü., Özcan, C., Gürbüz, M. A., & Selçuk, Ö. (2017). Trakya Bölgesi'nde Ayçiçeği Tarımında Kullanılan İmazamox Herbisit'inin Toprak Ortamında Kalıntı Düzeylerinin İzlenmesi ve Değerlendirilmesi. *Toprak Su Dergisi*, 6(2), 32-39.
- Çetinkaya, O. (2006). Türkiye sularına aşıl原因 veya stoklanan egzotik ve yerli balık türleri, bunların yetiştiricilik balıkçılık, doğal Populasyonlar ve sucul ekosistemler üzerindeki etkileri: Veri tabanı için bir ön çalışma. I. *Balıklandırma ve Rezervuar Yönetimi Sempozyumu*, 7(09).
- Dar, S. A., Yousuf, A. R., & Balkhi, M. (2016). An introduction about genotoxicology methods as tools for monitoring aquatic ecosystem: present status and future perspectives. *Fish Aquac J*, 7(158), 2.
- Deb, D., Engel, B. A., Harbor, J., Hahn, L., Jae Lim, K., & Zhai, T. (2010). Investigating potential water quality impacts of fungicides used to combat soybean rust in Indiana. *Water, Air, and Soil Pollution*, 207, 273-288.
- Du, S. N., McCallum, E. S., Vaseghi-Shanjani, M., Choi, J. A., Warriner, T. R., Balshine, S., & Scott, G. R. (2018). Metabolic costs of exposure to wastewater effluent lead to compensatory adjustments in respiratory physiology in bluegill sunfish. *Environmental Science & Technology*, 52(2), 801-811.
- EFSA. (2010). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance azoxystrobin. *EFSA Journal*, 8(4), 1542.
- Erguden, S. (2013). Age, growth, sex ratio and diet of eastern mosquitofish *Gambusia holbrooki* Girard, 1859 in Seyhan Dam Lake (Adana/Turkey).
- Fernandes, A. M., Fero, K., Arrenberg, A. B., Bergeron, S. A., Driever, W., & Burgess, H. A. (2012). Deep brain photoreceptors control light-seeking behavior in zebrafish larvae. *Current Biology*, 22(21), 2042-2047.
- Friberg-Jensen, U., Nachman, G., & Christoffersen, K. S. (2010). Early signs of lethal effects in *Daphnia magna* (Branchiopoda, Cladocera) exposed to the insecticide cypermethrin and the fungicide azoxystrobin. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(10), 2371-2378.
- Froese, R. (2005). FishBase. world wide web electronic publication. <http://www.fishbase.org>.
- Gamil, W., Mariy, F., Youssef, L., & Halim, S. A. (2011). Effect of Indoxacarb on some biological and biochemical aspects of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) larvae. *Annals of Agricultural Sciences*, 56(2), 121-126.
- Gao, A.-H., Fu, Y.-Y., Zhang, K.-Z., Zhang, M., Jiang, H.-W., Fan, L.-X., Nan, F.-J., Yuan, C.-G., Li, J., & Zhou, Y.-B. (2014). Azoxystrobin, a mitochondrial complex III Qo site inhibitor, exerts beneficial metabolic effects in vivo and in vitro. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1840(7), 2212-2221.
- Gavrilescu, M., Demnerová, K., Aamand, J., Agathos, S., & Fava, F. (2015). Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. *New biotechnology*, 32(1), 147-156.
- Geldiay, R., & Balık, S. (1999). *Türkiye tatlısu balıkları*. Ege Üniversitesi Basımevi.
- Gibbons, D., Morrissey, C., & Mineau, P. (2015). A review of the direct and indirect effects of neonicotinoids and fipronil on vertebrate wildlife. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(1), 103-118.

- Golpich, M., Amini, E., Mohamed, Z., Azman Ali, R., Mohamed Ibrahim, N., & Ahmadiani, A. (2017). Mitochondrial dysfunction and biogenesis in neurodegenerative diseases: pathogenesis and treatment. *CNS neuroscience & therapeutics*, 23(1), 5-22.
- Grung, M., Lin, Y., Zhang, H., Steen, A. O., Huang, J., Zhang, G., & Larssen, T. (2015). Pesticide levels and environmental risk in aquatic environments in China—A review. *Environment international*, 81, 87-97.
- Güner, U. (2009). Determination of lambda cyhalotrin (Tekvando 5EC) 96 hour lethal concentration 50 at *Gambusia affinis* (Baird & Girard, 1853). *Journal of FisheriesSciences. com*, 3(3), 214.
- Güner, U. (2010). BIOACCUMULATION OF COBALT IN MOSQUITOFISH (*Gambusia affinis* BAIRD&GIRARS, 1853) AT DIFFERENT FLOW RATES AND CONCENTRATIONS. *Journal of FisheriesSciences. com*, 4(1), 20.
- Güner, U. (2012a). Alüminyumun, Farklı pH Değerlerinde *Gambusia affinis* (Baird & Girard, 1853) Üzerine Toksisitesi. V. National Symposium on Limnology,
- Güner, U. (2012b). DETERMINATION OF 24-AND 48-HOUR LC⁵⁰ VALUES OF DIAZINON IN *GAMBUSIA AFFINIS* (BAIRD & GIRARD, 1853). *Arhiv Za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 63, 32.
- Güner, U. (2014). Toksikoloji. *Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi*, 2, 186-189.
- Güner, U. (2016). Behavioral differentiation induced by insecticide lambda-cyhalothrin in mosquito fish, *Gambusia affinis*. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 2(1), 11-17.
- Halappa, R., & David, M. (2009). Behavioral responses of the freshwater fish, *Cyprinus carpio* (Linnaeus) following sublethal exposure to chlorpyrifos. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 9(2).
- Hernández, A. F., Parrón, T., Tsatsakis, A. M., Requena, M., Alarcón, R., & López-Guarnido, O. (2013). Toxic effects of pesticide mixtures at a molecular level: their relevance to human health. *Toxicology*, 307, 136-145.
- Hladik, M. L., Kolpin, D. W., & Kuivila, K. M. (2014). Widespread occurrence of neonicotinoid insecticides in streams in a high corn and soybean producing region, USA. *Environmental pollution*, 193, 189-196.
- Huang, Y., Zhu, G., Peng, L., Ni, W., Wang, X., Zhang, J., & Wu, K. (2015). Effect of 2, 2', 4, 4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) on sexual behaviors and reproductive function in male zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 111, 102-108.
- İnnal, D., & Erk'akan, F. (2006). Effects of exotic and translocated fish species in the inland waters of Turkey. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 16, 39-50.
- İzah, S. C., & Angaye, T. C. (2016). Heavy metal concentration in fishes from surface water in Nigeria: Potential sources of pollutants and mitigation measures. *Sky Journal of Biochemistry Research*, 5(4), 31-47.
- Jia, W., Mao, L., Zhang, L., Zhang, Y., & Jiang, H. (2018). Effects of two strobilurins (azoxystrobin and picoxystrobin) on embryonic development and enzyme activities in juveniles and adult fish livers of zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 207, 573-580.
- Jiang, J., Lv, L., Wu, S., An, X., Wang, F., Liu, X., & Zhao, X. (2019). Developmental toxicity of kresoxim-methyl during zebrafish (*Danio rerio*) larval development. *Chemosphere*, 219, 517-525.

- Jiang, J., Shi, Y., Yu, R., Chen, L., & Zhao, X. (2018). Biological response of zebrafish after short-term exposure to azoxystrobin. *Chemosphere*, 202, 56-64.
- Jimenez, A. G., Van Brocklyn, J., Wortman, M., & Williams, J. B. (2014). Cellular metabolic rate is influenced by life-history traits in tropical and temperate birds. *PLoS One*, 9(1), e87349.
- Jin, Y., Zhang, X., Shu, L., Chen, L., Sun, L., Qian, H., Liu, W., & Fu, Z. (2010). Oxidative stress response and gene expression with atrazine exposure in adult female zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 78(7), 846-852.
- Jones, J. C., & Reynolds, J. D. (1997). Effects of pollution on reproductive behaviour of fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7, 463-491.
- Joseph, R. S. (1999). Metabolism of azoxystrobin in plants and animals. *SPECIAL PUBLICATION-ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY*, 233, 265-278.
- Jyothi, B., & Narayan, G. (1999). Certain pesticide-induced carbohydrate metabolic disorders in the serum of freshwater fish *Clarias batrachus* (Linn.). *Food and chemical toxicology*, 37(4), 417-421.
- Kankaya, E., & Kaptaner, B. (2017). Sublethal toxicity of formaldehyde in common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758). *Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 27(3), 406-415.
- Kennedy, J., & Turan, N. (2000). Metabolic Pathways of Agrochemicals-Parts 1 & 2; Terry Roberts & David Hutson (Eds.); ISBN 0-85404-489-2. *Carbohydrate Polymers*, 4(41), 426.
- Kern, S., Fenner, K., Singer, H. P., Schwarzenbach, R. P., & Hollender, J. (2009). Identification of transformation products of organic contaminants in natural waters by computer-aided prediction and high-resolution mass spectrometry. *Environmental Science & Technology*, 43(18), 7039-7046.
- Khandelwal, A., Gupta, S., Gajbhiye, V. T., & Varghese, E. (2014). Degradation of kresoxim-methyl in soil: impact of varying moisture, organic matter, soil sterilization, soil type, light and atmospheric CO₂ level. *Chemosphere*, 111, 209-217.
- Kulaksız, Ç., & Akgün, A. (2020). Meriç Nehri (Edirne) Boyunca Nehir Suyuyla Sulanan Çeltiklerde Pestisit Kalıntıları. *Akademik Gıda*, 18(1), 36-44.
- Kumar, N., Willis, A., Satbhai, K., Ramalingam, L., Schmitt, C., Moustaid-Moussa, N., & Crago, J. (2020). Developmental toxicity in embryo-larval zebrafish (*Danio rerio*) exposed to strobilurin fungicides (azoxystrobin and pyraclostrobin). *Chemosphere*, 241, 124980.
- Kurtul, I., & Sarı, H. (2017). İstilacı *Gambusia* Türlerinin (*Gambusia holbrooki* ve *G. affinis*) Özellikleri, Türkiye'deki Durumları ve Oluşturdıkları Ekolojik Riskler. *LimnoFish*, 3(1), 51-60.
- Lammer, E., Carr, G., Wendler, K., Rawlings, J., Belanger, S., & Braunbeck, T. (2009). Is the fish embryo toxicity test (FET) with the zebrafish (*Danio rerio*) a potential alternative for the fish acute toxicity test? *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 149(2), 196-209.
- Li, H., Yu, S., Cao, F., Wang, C., Zheng, M., Li, X., & Qiu, L. (2018). Developmental toxicity and potential mechanisms of pyraoxystrobin to zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 151, 1-9.
- Li, H., Yu, S., Cao, F., Wang, C., Zheng, M., Li, X., & Qiu, L. (2018b). Developmental toxicity and potential mechanisms of pyraoxystrobin to zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 151, 1-9.

- Li, H., Zhao, F., Cao, F., Teng, M., Yang, Y., & Qiu, L. (2019). Mitochondrial dysfunction-based cardiotoxicity and neurotoxicity induced by pyraclostrobin in zebrafish larvae. *Environmental pollution*, 251, 203-211.
- Li, X., Wang, J., Ba, W., Zhang, S., Lin, Z., Gao, M., Tian, H., & Ru, S. (2022). Mechanistic revealing of reproductive behavior impairment in male guppy (*Poecilia reticulata*) induced by environmentally realistic 2, 2'-dithiobis-pyridine exposure. *Chemosphere*, 286, 131839.
- Li, X. Y., Qin, Y. J., Wang, Y., Huang, T., Zhao, Y. H., Wang, X. H., Martyniuk, C. J., & Yan, B. (2021). Relative comparison of strobilurin fungicides at environmental levels: Focus on mitochondrial function and larval activity in early staged zebrafish (*Danio rerio*). *Toxicology*, 452, 152706.
- Liu, L., Jiang, C., Wu, Z.-Q., Gong, Y.-X., & Wang, G.-X. (2013). Toxic effects of three strobilurins (trifloxystrobin, azoxystrobin and kresoxim-methyl) on mRNA expression and antioxidant enzymes in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) juveniles. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 98, 297-302.
- Lloyd, L., & Tomasov, J. (1985). Taxonomic status of the mosquitofish, *Gambusia affinis* (Poeciliidae), in Australia. *Marine and Freshwater Research*, 36(3), 447-451.
- Lloyd, L. N. (1987). *Ecology and distribution of the small native fish of the lower River Murray, South Australia and their interactions with the exotic mosquitofish, Gambusia affinis holbrooki* (Girard)
- Lu, B. (2018). Azoxystrobin and pyraclostrobin dominate the market of Strobilurin fungicides. *Shandong Pesticide News*, 4, 24-30.
- Maltby, L., Brock, T. C., & Van den Brink, P. J. (2009). Fungicide risk assessment for aquatic ecosystems: importance of interspecific variation, toxic mode of action, and exposure regime. *Environmental Science & Technology*, 43(19), 7556-7563.
- Maurya, P. K., & Malik, D. (2016). Distribution of heavy metals in water, sediments and fish tissue (*Heteropneustis fossilis*) in Kali River of western UP India. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 4(2), 208-215.
- Meffe, G. K. (1992). Plasticity of life-history characters in eastern mosquitofish (*Gambusia holbrooki*: Poeciliidae) in response to thermal stress. *Copeia*, 94-102.
- Midzak, A. S., Chen, H., Aon, M. A., Papadopoulos, V., & Zirkin, B. R. (2011). ATP synthesis, mitochondrial function, and steroid biosynthesis in rodent primary and tumor Leydig cells. *Biology of reproduction*, 84(5), 976-985.
- Moreira, S., Moreira-Santos, M., Rendón-von Osten, J., Da Silva, E., Ribeiro, R., Guilhermino, L., & Soares, A. (2010). Ecotoxicological tools for the tropics: Sublethal assays with fish to evaluate edge-of-field pesticide runoff toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(5), 893-899.
- Morrison, S. A., Mcmurry, S. T., Smith, L. M., & Belden, J. B. (2013). Acute toxicity of pyraclostrobin and trifloxystrobin to *Hyaella azteca*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32(7), 1516-1525.
- Morrissey, C. A., Mineau, P., Devries, J. H., Sanchez-Bayo, F., Liess, M., Cavallaro, M. C., & Liber, K. (2015). Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: a review. *Environment international*, 74, 291-303.
- Mu, X., Chai, T., Wang, K., Zhang, J., Zhu, L., Li, X., & Wang, C. (2015). Occurrence and origin of sensitivity toward difenoconazole in zebrafish (*Danio rerio*) during different life stages. *Aquatic toxicology*, 160, 57-68.

- Mu, X., Huang, Y., Luo, J., Shen, G., Li, X., Lei, Y., Li, Y., & Wang, C. (2017). Evaluation of acute and developmental toxicity of azoxystrobin on zebrafish via multiple life stage assays. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 37(3), 1122-1132.
- Mueller, K. P., & Neuhauss, S. C. (2012). Light perception: more than meets the eyes. *Current Biology*, 22(21), R912-R914.
- Nowell, L. H., Norman, J. E., Moran, P. W., Martin, J. D., & Stone, W. W. (2014). Pesticide toxicity index—a tool for assessing potential toxicity of pesticide mixtures to freshwater aquatic organisms. *Science of the total environment*, 476, 144-157.
- Nwani, C. D., Ama, U. I., Okoh, F., Oji, U. O., Ogbonyealu, R. C., Ibiam, A. A., & Udu-Ibiam, O. (2013). Acute toxicity of the chloroacetanilide herbicide butachlor and its effects on the behavior of the freshwater fish *Tilapia zillii*. *African journal of biotechnology*, 12(5).
- Ochoa-Acuña, H. G., Bialkowski, W., Yale, G., & Hahn, L. (2009). Toxicity of soybean rust fungicides to freshwater algae and *Daphnia magna*. *Ecotoxicology*, 18, 440-446.
- Öner, N., İnan, M., Vatansever, Ü., Turan, Ç., Çeltik, C., Küçükuğurluoğlu, Y., Duran, R., & Karasalihoğlu, S. (2004). Trakya bölgesinde çocuklarda görülen zehirlenmeler. *Türk Pediatri Arşivi*, 39(1), 25-30.
- Öterler, B. (2009). 3 tatlı su fitoplankton türünün (*Chlorella vulgaris* bejj. 1890, *Scenedesmus quadricauda* (turpin) bréb. 1835 ve *cyclotella meneghiniana* kütz. 1844) gelişimi üzerine 5 farklı pestisit (azinphos-methyl, malathion, parathion-ethyl, terbufos, trichlorfon) toksisitesi.
- Özcan, C. (2018). Türkiye, Ergene Nehir Havzası'nda, Çevre Kirliliğinde Biomonitör Olarak Kullanılan Çeşitli Bitki Yapraklarındaki Organoklorlu Pestisitlerin Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi ile Tayini. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 18(1), 222-232.
- Pandey, G., & Rathore, H. (2023). Toxicity of Strobilurins fungicides: A comprehensive review. *Journal of Chemical Health Risks*, 13(2), 207-218.
- Parra, J., Mercader, J. V., Agulló, C., Abad-Somovilla, A., & Abad-Fuentes, A. (2012). Synthesis of azoxystrobin transformation products and selection of monoclonal antibodies for immunoassay development. *Toxicology letters*, 210(2), 240-247.
- Pérez, J., Domingues, I., Monteiro, M., Soares, A. M., & Loureiro, S. (2013). Synergistic effects caused by atrazine and terbutylazine on chlorpyrifos toxicity to early-life stages of the zebrafish *Danio rerio*. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(7), 4671-4680.
- Pinho, B. R., Santos, M. M., Fonseca-Silva, A., Valentão, P., Andrade, P. B., & Oliveira, J. M. (2013). How mitochondrial dysfunction affects zebrafish development and cardiovascular function: an in vivo model for testing mitochondria-targeted drugs. *British journal of pharmacology*, 169(5), 1072-1090.
- Ray, A., Dutta, D., Ghosh, B., & Bahadur, M. (2023). Azoxystrobin induced genotoxicity in *Pethia conchoni*, a freshwater fish of river Teesta, India.
- Regueiro, J., Olguín, N., Simal-Gándara, J., & Suñol, C. (2015). Toxicity evaluation of new agricultural fungicides in primary cultured cortical neurons. *Environmental Research*, 140, 37-44.
- Rodrigues, E. T. (2016). *Occurrence, fate and effects of azoxystrobin in aquatic ecosystems* Universidade de Coimbra (Portugal)].

- Rodrigues, E. T., Lopes, I., & Pardal, M. Â. (2013). Occurrence, fate and effects of azoxystrobin in aquatic ecosystems: a review. *Environment international*, 53, 18-28.
- Rodrigues, E. T., Pardal, M. Â., Laizé, V., Cancela, M. L., Oliveira, P. J., & Serafim, T. L. (2015). Cardiomyocyte H9c2 cells present a valuable alternative to fish lethal testing for azoxystrobin. *Environmental pollution*, 206, 619-626.
- Rouabhi, R. (2010). *Introduction and toxicology of fungicides*. INTECH Open Access Publisher.
- Saha, N. C., Giri, S. K., Chatterjee, N., Biswas, S. J., & Bej, S. (2016). Acute toxic effects of mancozeb to fish *Oreochromis mossambicus* (WKH Peters, 1852) and their behaviour. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci*, 3(6), 40-44.
- Sauter, H., Steglich, W., & Anke, T. (1999). Strobilurins: evolution of a new class of active substances. *Angewandte Chemie International Edition*, 38(10), 1328-1349.
- Schlenk, D., Handy, R., Steinert, S., Depledge, M., & Benson, W. (2008). Biomarkers The Toxicology of Fishes. In: CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, RT Di Giulio, DE Hinton
- Schmidt, F., Marx-Stoelting, P., Haider, W., Heise, T., Kneuer, C., Ladwig, M., Banneke, S., Rieke, S., & Niemann, L. (2016). Combination effects of azole fungicides in male rats in a broad dose range. *Toxicology*, 355, 54-63.
- Schreiner, V. C., Szöcs, E., Bhowmik, A. K., Vijver, M. G., & Schäfer, R. B. (2016). Pesticide mixtures in streams of several European countries and the USA. *Science of the total environment*, 573, 680-689.
- Schulz, R. (2004). Field studies on exposure, effects, and risk mitigation of aquatic nonpoint-source insecticide pollution: A review. *Journal of environmental quality*, 33(2), 419-448.
- Shi, X., Gu, A., Ji, G., Li, Y., Di, J., Jin, J., Hu, F., Long, Y., Xia, Y., & Lu, C. (2011). Developmental toxicity of cypermethrin in embryo-larval stages of zebrafish. *Chemosphere*, 85(6), 1010-1016.
- Singh, N., Singh, S. B., Mukerjee, I., Gupta, S., Gajbhiye, V. T., Sharma, P. K., Goel, M., & Dureja, P. (2010). Metabolism of ¹⁴C-azoxystrobin in water at different pH. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 45(2), 123-127.
- Sloman, K., & McNeil, P. (2012). Using physiology and behaviour to understand the responses of fish early life stages to toxicants. *Journal of fish biology*, 81(7), 2175-2198.
- Smalling, K. L., & Kuivila, K. M. (2008). Multi-residue method for the analysis of 85 current-use and legacy pesticides in bed and suspended sediments. *Journal of Chromatography A*, 1210(1), 8-18.
- Smith, T. M., & Stratton, G. W. (1986). Effects of synthetic pyrethroid insecticides on nontarget organisms. *Residue reviews*, 93-120.
- Solomon, K. R., Giddings, J. M., & Maund, S. J. (2001). Probabilistic risk assessment of cotton pyrethroids: I. Distributional analyses of laboratory aquatic toxicity data. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 20(3), 652-659.
- Souders, C. L., Liang, X., Wang, X., Ector, N., Zhao, Y. H., & Martyniuk, C. J. (2018). High-throughput assessment of oxidative respiration in fish embryos: Advancing adverse outcome pathways for mitochondrial dysfunction. *Aquatic toxicology*, 199, 162-173.

- Soylu, Y. (2018). *Türkiye'deki Çavuşçu Gölü'ndeki Sazan (Cyprinus carpio L. 1758)'da Bazı Organik Klorlu Pestisit Kalıntılarının Araştırılması* Necmettin Erbakan University (Turkey)].
- Srivastava, P., & Singh, A. (2013). In vivo study of effects of dithiocarbamates fungicide (mancozeb) and its metabolite ethylenethiourea (ETU) on fresh water fish *Clarius batrachus*. *Journal of Biology and Earth Sciences*, 3(2), B228-B235.
- Stearns, S. C. (1983). The evolution of life-history traits in mosquitofish since their introduction to Hawaii in 1905: rates of evolution, heritabilities, and developmental plasticity. *American Zoologist*, 23(1), 65-75.
- Taheri Mirghaed, A., Ghelichpour, M., Mirzargar, S. S., Joshaghani, H., & Ebrahimzadeh Mousavi, H. (2018). Toxic effects of indoxacarb on gill and kidney histopathology and biochemical indicators in common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Research*, 49(4), 1616-1627.
- Tarkan, A. S., Güler Ekmekçi, F., Vilizzi, L., & Copp, G. H. (2014). Risk screening of non-native freshwater fishes at the frontier between Asia and Europe: first application in Turkey of the fish invasiveness screening kit. *Journal of Applied Ichthyology*, 30(2), 392-398.
- Taxvig, C., Vinggaard, A., Hass, U., Axelstad, M., Metzdorff, S., & Nellemann, C. (2008). Endocrine-disrupting properties in vivo of widely used azole fungicides. *International journal of andrology*, 31(2), 170-177.
- Tennekes, H. A., & Sanchez-Bayo, F. (2011). Time-dependent toxicity of neonicotinoids and other toxicants: implications for a new approach to risk assessment. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*.
- Tierney, K. B. (2016). Chemical avoidance responses of fishes. *Aquatic toxicology*, 174, 228-241.
- Tomlin, C. (1881). *The pesticide manual: A world compendium: incorporating the agrochemicals handbook*. Wiley-Blackwell.
- Trendall, J. T. (1982). Covariation of life history traits in the mosquitofish, *Gambusia affinis*. *The American Naturalist*, 119(6), 774-783.
- Tu, W., Niu, L., Liu, W., & Xu, C. (2013). Embryonic exposure to butachlor in zebrafish (*Danio rerio*): endocrine disruption, developmental toxicity and immunotoxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 89, 189-195.
- Uçkun, A. A., & Öz, Ö. B. (2021). Evaluation of the acute toxic effect of azoxystrobin on non-target crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) by using oxidative stress enzymes, ATPases and cholinesterase as biomarkers. *Drug and Chemical Toxicology*, 44(5), 550-557.
- Vondracek, B., Wurtsbaugh, W. A., & Cech, J. J. (1988). Growth and reproduction of the mosquitofish, *Gambusia affinis*, in relation to temperature and ration level: consequences for life history. *Environmental Biology of Fishes*, 21(1), 45-57.
- Wang, D., Yu, Y., Zhang, X., Zhang, D., Zhang, S., & Wu, M. (2013). Organochlorine pesticides in fish from Taihu Lake, China, and associated human health risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 98, 383-389.
- Wang, H., Qiu, T.-X., Lu, J.-F., Liu, H.-W., Hu, L., Liu, L., & Chen, J. (2021). Potential aquatic environmental risks of trifloxystrobin: Enhancement of virus susceptibility in zebrafish through initiation of autophagy. *Zoological Research*, 42(3), 339.

- Wang, K., Sun, Z., Yang, L., He, L., Li, X., & Wang, G. (2020). Respiratory toxicity of azoxystrobin, pyraclostrobin and coumoxystrobin on *Chlorella vulgaris*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 104, 799-803.
- Wang, S., Wang, J., Zhang, X., Xu, X. T., Wen, Y., He, J., & Zhao, Y. H. (2021). Freshwater quality criteria of four strobilurin fungicides: Interspecies correlation and toxic mechanism. *Chemosphere*, 284, 131340.
- Wang, X., Li, X., Wang, Y., Qin, Y., Yan, B., & Martyniuk, C. J. (2021). A comprehensive review of strobilurin fungicide toxicity in aquatic species: Emphasis on mode of action from the zebrafish model. *Environmental pollution*, 275, 116671.
- Wang, X., Lu, Z., Miller, H., Liu, J., Hou, Z., Liang, S., Zhao, X., Zhang, H., & Borch, T. (2020). Fungicide azoxystrobin induced changes on the soil microbiome. *Applied Soil Ecology*, 145, 103343.
- Wang, X. H., Souders II, C. L., Zhao, Y. H., & Martyniuk, C. J. (2018c). Paraquat affects mitochondrial bioenergetics, dopamine system expression, and locomotor activity in zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 191, 106-117.
- Wang, X. H., Zheng, S. S., Huang, T., Su, L. M., Zhao, Y. H., Souders II, C. L., & Martyniuk, C. J. (2018b). Fluazinam impairs oxidative phosphorylation and induces hyper/hypo-activity in a dose specific manner in zebrafish larvae. *Chemosphere*, 210, 633-644.
- Wang, Y., Dai, D., Yu, Y., Yang, G., Shen, W., Wang, Q., Weng, H., & Zhao, X. (2018). Evaluation of joint effects of cyprodinil and kresoxim-methyl on zebrafish, *Danio rerio*. *Journal of Hazardous Materials*, 352, 80-91.
- Wang, Y., Wu, S., Chen, J., Zhang, C., Xu, Z., Li, G., Cai, L., Shen, W., & Wang, Q. (2018). Single and joint toxicity assessment of four currently used pesticides to zebrafish (*Danio rerio*) using traditional and molecular endpoints. *Chemosphere*, 192, 14-23.
- Warming, T. P., Mulderij, G., & Christoffersen, K. S. (2009). Clonal variation in physiological responses of *Daphnia magna* to the strobilurin fungicide azoxystrobin. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 28(2), 374-380.
- Wing, K. D., Sacher, M., Kagaya, Y., Tsurubuchi, Y., Mulderig, L., Connair, M., & Schnee, M. (2000). Bioactivation and mode of action of the oxadiazine indoxacarb in insects. *Crop Protection*, 19(8-10), 537-545.
- Yoğurtçuoğlu, B. (2016). İstilacı bir balık türü *Gambusia holbrooki* ile endemik bir balık türü *Aphanius transgrediens* in Acıgöl (Denizli-Afyon) kaynaklarındaki yaşam döngüleri, besin rekabeti ve habitat kullanımları.
- Zhang, C., Zhou, T., Wang, J., Zhang, S., Zhu, L., Du, Z., & Wang, J. (2018). Acute and chronic toxic effects of fluoxastrobin on zebrafish (*Danio rerio*). *Science of the total environment*, 610, 769-775.
- Zhang, W., Liu, W., Zhang, J., Zhao, H., Zhang, Y., Quan, X., & Jin, Y. (2012). Characterisation of acute toxicity, genotoxicity and oxidative stress posed by textile effluent on zebrafish. *Journal of environmental sciences*, 24(11), 2019-2027.
- Zhu, B., Liu, G.-L., Liu, L., Ling, F., & Wang, G.-X. (2015). Assessment of trifloxystrobin uptake kinetics, developmental toxicity and mRNA expression in rare minnow embryos. *Chemosphere*, 120, 447-455.

- Zhu, B., Liu, G.-L., Liu, L., Ling, F., & Wang, G.-X. (2015a). Assessment of trifloxystrobin uptake kinetics, developmental toxicity and mRNA expression in rare minnow embryos. *Chemosphere*, 120, 447-455.
- Zubrod, J. P., Bundschuh, M., Arts, G., Brühl, C. A., Imfeld, G., Knäbel, A., Payraudeau, S., Rasmussen, J. J., Rohr, J., & Scharmüller, A. (2019). Fungicides: an overlooked pesticide class? *Environmental Science & Technology*, 53(7), 3347-3365.



ÖZGEÇMİŞ

Berkay DUVAR, İlk öğrenimini Tekirdağ'ının Malkara ilçesinde tamamladı. Orta Öğrenimini Kırklareli' nin Lüleburgaz ilçesinde tamamladı. 2016 yılında öğrenimine başladığı Trakya Üniversitesi Fen Bilgisi Öğretmenliği bölümünden 2020 yılında mezun oldu. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında 2021 yılında yüksek öğrenimine başlamıştır. 2022 yılından bu yana, Trakya Üniversitesi Balkan Onkoloji Hastanesi'nde klinik araştırma koordinatörü olarak görev yapmaktadır ve hala bu görevine devam etmektedir.

