

Fenol'e Maruz Kalan Sazan (*Cyprinus carpio*)'ların Periferik Kan Eritrositlerindeki Anormalliklerin İncelenmesi

Mikail ÖZCAN^{1*}, Engin ŞEKER², Ünal İSPİR³

¹ Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü, Kahramanmaraş

² Munzur Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Tunceli

³ Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Doğanşehir Vahap Küçük MYO, Malatya

*Sorumlu Yazar: mikailozcan@ksu.edu.tr

Geliş Tarihi: 23.03.2022 Düzeltme Geliş Tarihi: 06.05.2022 Kabul Tarihi: 30.06.2022

Öz

Fenol ve fenolik bileşikler, hayvanlarda ciddi sıkıntılara neden olan çevresel ksenobiyotiklerdir. Fenol doğada antropojenik etkiye sahip olup önemli problemlere neden olmaktadır. Bu çalışma, fenolün sazan (*Cyprinus carpio*) eritrositlerinde olası genotoksik etkilerinin araştırılması amacıyla yapılmıştır. Çalışmada ortalama ağırlıkları 0.474 ± 0.04 g olan balıklar kullanılmıştır. Balıklar 24, 48, 72, 96 saatler boyunca 0 (kontrol), 5, 10 ve 20 ppm fenol ile muamele edilmiştir. Eritrositlerdeki mikronükleus (MN) ve nükleer anormallik (NAs) oluşumu incelenmiştir. Eritrositlerde, MN ve NAs konsantrasyonuna bağlı olarak bir artışın olduğu görülmüştür. Mikronükleus testindeki sonuçlar, fenolün güçlü mutajenik bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir ($p < 0.05$). Fenol tatlı su ekosistemlerinde yüksek risk taşıyan bir kirletici olduğundan, akuatik ortamların çevresel risk değerlendirmesinin saptanması için daha ayrıntılı çalışmalar yapılmalıdır.

Anahtar kelimeler: Sazan, *Cyprinus carpio*, Fenol, Mikronükleus, Nükleer Anormal

Investigations of Abnormalities in Peripheral Blood Erythrocytes of Carp (*Cyprinus carpio*) Exposed to Phenol

Abstract

Phenol ve phenolic compositions are xenobiotics stressful environmental agents to which animals are expose to serve anemia because of phenol and have become environmental problem owing to anthropogenic effect on the nature. This study was conducted to investigate of the possible genotoxic effects of phenol on erythrocytes of carp (*Cyprinus carpio*). The fish used in this study were an average weight of 0.474 ± 0.04 g. Fishes were treated with 0 (control), 5, 10 ve 20 ppm of phenol during 24, 48, 72, 96 hours. Fish were analyzed for induction of micronucleus (MN) and nuclear abnormalities (NAs) in erythrocytes. Results showed exposure condensation dependent increases in the frequencies of NAs and MN. Our results in the micronucleus test also indicated that phenol is potentially mutagenic ($p < 0.05$). Further comprehensive studies should be done for the decision of the environmental risk assessment for aquatic life since phenol is a high risk contaminant of freshwater ecosystems.

Key words: Carp, *Cyprinus carpio*, Phenol, Micronucleus, Nuclear abnormalities

Giriş

Su kirliliği, insan ve diğer canlıları etkileyen ve doğal kaynakları bozan günümüzün en önemli sorunlarından biridir (Inyinbor ve ark., 2018). Su

ortamına giren çok sayıdaki kimyasal bileşik, deniz ve tatlı su organizmaları için tehlikeli etkilere neden olabilmektedir. Endüstriyel atıklar herhangi bir işlemde geçmeden sulara rastgele boşaltılmakta ve organizmalarda ciddi sorunlar oluşturmaktadır.

Tatlı suya karışan kirleticiler sudaki çözünmüş oksijen miktarının azaltması nedeniyle balıklarda mortalite görülebilmektedir (Black, 1955; Stegeman ve ark., 1992; Khan ve ark., 2000; Garg ve ark., 2009; Mishra ve Poddar, 2013; Abu Aita, 2014).

Tüm bu olumsuz etkilere rağmen organik bileşiklerin karasal organizmalar üzerindeki ekotoksikolojik etkileri hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Sucul organizmalar toksikolojik maddeler ile hayatları boyunca sürekli olarak karşı karşıya kalmaktadır. Bazı organik kirleticilerin balıklar ve diğer canlılara olan akut ekotoksiteleri araştırılmıştır. Ancak bu veriler tek başına, çevresel etki ve risk değerlendirilmesi ile ilgili konuları açıklamak için yeterli olmayabilir (Escher, 2001; Traas ve Van Leeuwen, 2007; Ma ve ark., 2019).

Fenol ve fenolik bileşikler anemiye neden olan bir ksenobiyotiktir. Fenol ekosistem üzerinde antropojenik etki gösterdiğinden önemli bir çevre kirleticisi olarak kabul edilmektedir (Hori ve ark., 2006; Zaki ve ark., 2011).

Son yıllarda balıklar indikatör organizmalar olarak genotoksisitenin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Stegeman ve ark., 1991). İnsanların alternatif besin kaynaklarının önemli bir bölümünü oluşturan balıklarda meydana gelebilecek toksik etkiler önem arz etmektedir (Al-Sabti, 1992).

Balıklarda mikronükleus, eritrositler, solungaçlar, böbrek, karaciğer ve yüzgeç hücreleri gibi farklı hücre tiplerinde görselleştirilmiştir. Kompleks hücre preparasyonunu ve canlıların öldürülmesini engellediği için periferik eritrositlerin kullanımı daha yaygındır (Bolognesi ve Hayashi, 2011).

Mikronükleus (MN) testi, laboratuvar ve saha koşulları altında genotoksisitenin bir ölçüsü olarak kullanılmaktadır. Balıklardaki mikronükleus testi, çevresel maddelerin sulu ortamlardaki klastojenik ve anöjenik etkilerini tespit etme potansiyeline sahiptir. Birkaç yazar tarafından tarif edilen loblu, kabarcıklı ve çentikli çekirdekler gibi nükleer anormalliklerin (NAs) oluşumu, balık eritrositlerinde sitotoksik, genotoksik, mutajenik veya kanserojen aktivite ile maruz kalmanın bir sonucu olarak balık eritrositlerinde rapor edilmiştir (Heddle ve ark., 1983; Al-Sabti ve Metcalfe, 1995; Fenech ve ark., 2003; Çavaş ve Könen, 2007; Çavaş ve Könen, 2008; Kumar ve ark., 2009; Machado Da Rocha ve ark., 2009).

Fenolün sazan yavrularında periferik kan eritrositlerindeki etkisi üzerine herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada Fenol'ün 5, 10 ve 20 ppm dozuna 24, 48, 72, 96 saat süre ile maruz bırakılan sazan (*Cyprinus carpio*) yavrularının periferik kan eritrositlerine olan

genotoksik etkisinin araştırılması amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Balık ve deneysel plan

Sazan, *Cyprinus carpio*, (ortalama ağırlığı 0,474±0,04 g), Devlet Su İşleri 9. Bölge Müdürlüğü Keban Balık Üretimi Şube Müdürlüğünden temin edilmiştir. Ortam şartlarına adaptasyonlarının sağlanması için 2 hafta beklenilmiştir. Cam akvaryumlara konan balıklara bir hava pompası vasıtasıyla sürekli olarak hava verilmiştir. Balıklar ticari bir balık yemi ile günlük olarak beslenmiştir. Çözünmüş oksijen, sıcaklık, pH, amonyum ve nitrit düzeyleri çalışma boyunca kontrol edilerek kabul edilebilir değerler arasında olması sağlanmıştır.

Balıklar her grupta 20 balık olacak şekilde 4 gruba ayrılmıştır. Birinci gruba, kontrol grubu olarak herhangi bir işlem yapılmamıştır. Diğer üç gruba ise sırasıyla 5, 10 ve 20 ppm fenol ilave edilmiş ve balıklar 96 saat için bu dozlara maruz bırakılmıştır. Deney iki tekerrür olacak şekilde yapılmıştır. Her grupta 20 balık olmak üzere toplamda 160 balık kullanılmıştır. Balıklar 96 saat sonra anestezi bir madde (50 ppm, benzokain) ile anestezi edilmiş ve kan alma işlemine geçilmiştir.

Mikronükleus testi

Anestezi altındaki balığın kuyruğu kesildi ve kanın bir damlası lam üzerine damlatılarak kan preparatı yapılmıştır. Metanol ile 10 dakika fiske edildi ve oda sıcaklığında kurutulmuştur. Daha sonra %5 Giemza solüsyonu kullanılarak 20 dakika için boyama işlemine geçilmiştir. Işık mikroskobu altında toplamda 1000 eritrosit sayılmış ve Fenech ve ark., (2003) yararlanılarak mikronükleus düzeyi tespit edilmiştir.

İstatistik analiz

Kolmogorov-Simirnov testi ile verilerin normal dağılıma uyduğu tespit edildikten sonra, farklılıkları ortaya çıkarmak için parametrik testler kullanılmıştır. Ortalama değerler arasındaki farklılıklar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Bonferroni testleri ile karşılaştırılmıştır. Tüm veriler ortalama ± st ve art hata olarak verilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Bu çalışmada; Fenol'ün 5, 10 ve 20 ppm dozuna 24, 48, 72, 96 saat süre ile maruz bırakılan sazan (*Cyprinus carpio*) yavrularının periferik kan eritrositlerine olan toksik etkisi araştırılmıştır. Eritrositlerdeki mikronükleus (MN) ve nükleer anormallik (NAs) oluşumu incelenmiştir.

Kontrol ve 5 ppm fenol uygulanan gruplardaki balıklarda beslenme davranışlarında değişim, yüzme ve herhangi bir fiziksel deformasyon ve ölüm kaydedilmemiştir. Ancak 10 ve 20 ppm fenole maruz kalan balıklarda 48 saat sonra hiperaktivite, düzensiz yüzme ve denge kaybı; 72 saat sonra ise solunum güçlüğü olduğu gözlenmiştir. Fakat mortalite oluşmamıştır.

Ülkemizde araştırmacılar, su ortamlarında birçok kimyasal etmenin balıklar üzerine genotoksik etkilerinin belirlenmesinde eritrosit MN testinden yararlanmışlardır (Al-Sabti, 1994; Bahari ve ark., 1994). İnsektisitler içinde Organofosforlu grubundan olan Methamidophos'un *Clarias lazera* balığında meydana getirdiği genotoksik etkisini araştırmıştır. Balıklarda mikronukleuslu eritrosit frekansı kontrol grubunda % 0.18, en düşük dozda (100 ppm) % 1.92 ve en yüksek (200 ppm) dozda ise % 3.26 olarak bulunmuşlardır (Sergene ve ark., 1999). Yılayaz (2005)'te yapılan çalışmada Parathion methyl maruz kalan *B. rajanorum mystaceus* mikronukleus oluşum frekansları incelenmiştir. Kontrol grubundaki balıklarda mikronukleuslu eritrosit frekansını % 0.09, 125 ppm'lik dozda % 1.35, 225 ppm'lik en yüksek dozda ise % 2.65 olarak belirlemiştir. Diğer bir çalışmada ise parathion methyl'e maruz bırakılan *C.trutta* bireylerinde mikronukleuslu eritrositlerin oluşum frekansları incelenmiştir kontrol grubunda % 0.08, 125ppm'lik grupta % 1.29, 225ppm'lik grupta ise % 2.56 olarak bulunmuştur (Yılayaz, 2006). Bu çalışmada ise Fenol'e maruz kalan sazan (*Cyprinus carpio*) yavrularının periferik kan eritrositlerindeki MN ölçülmüştür. Balıklarda eritrositlerindeki MN sıklığı kontrol grubunda; 1.72 (24 saat), 1.73 (48 saat), 1.72 (72 saat), 1.70 (96 saat); 5 ppm grubunda 1.69 (24 saat), 1.75 (48 saat), 1.69 (72 saat), 1.73 (96 saat); 10 ppm grubunda, 1.76 (24 saat), 1.83 (48 saat), 1.93 (72 saat), 2.28 (96 saat); 20 ppm grubunda, 1.98 (24 saat), 2.08 (48 saat), 2.49 (72 saat), 3.81 (96 saat) olarak belirlenmiştir

(Çizelge 1). Tüm deneysel gruplarda MN düzeyinin kontrol grubuna göre bir artış gösterdiği görülmektedir. Bu artış tüm gruplarda istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Sonuçta uygulanan Fenol'un *Cyprinus carpio* üzerinde genotoksik bir etki meydana getirdiği ve bununla beraber araştırma sonuçlarının daha önce yapılmış olan çalışma bulgularıyla bir paralellik içerisinde olduğu görülmüştür.

Fenol uygulanan gruplarda MN düzeyinin doza bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Buna göre en yüksek MN düzeyine 20 ppm fenol grubunda rastlanılmış olup diğer gruplardan istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur (P<0.05) (Çizelge 1). 10 ve 20 ppm fenol gruplarında MN düzeyi 24 saatte artış gösterip deneyin sonuna kadar artışını göstermiştir. Buna rağmen 5 ppm fenol grubundaki balıklarda görülen MN insidansı 48 saat sonra artış göstermiş olup bu artışını deney sonuna kadar korumuştur. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, Imidacloprid, Aficida® ve Endosulfan insektisitlerine maruz bırakılan *Oreochromis niloticus*, *Cnesterodon decemmaculatus* ve *Carassius carassius*'taki MN testi ile değerlendirilmesi gibi farklı balık türleri kullanılarak yapılan diğer pestisit çalışmalarını desteklemektedir (Candiotti ve ark., 2010; Dar ve ark., 2015; Ansoar-Rodríguez ve ark., 2015). Bu çalışmalar, pestisitlerden etkilenebilecek sucul ekosistemlerin biyo-izlenmesi için bir model olarak balık ve MN testinin etkinliğini göstermektedir.

Nükleer anomallik (NAs) oluşumunda Fenol ve fenolik bileşiklerin ürettiği reaktif oksijen türlerinin etkili olduğu düşünülmektedir. Çalışmalar reaktif oksijen türlerinin hem endojen hem de eksojen uyarıcılar sonucu üretildiğini göstermektedir (Fuchs-Tarlovsky, 2013). Eritrositlerde rastlanan NAs sıklığı 10 ve 20 ppm fenol uygulanan gruplarda kontrol grubuna oranla fazla bulunmuştur (p<0.05) (Çizelge 2). NAs sayısı 20 ppm fenol uygulanan grubunda 96 saatte önemli derecede artış göstermiştir (Şekil 1).

Çizelge 1. Fenole maruz kalan sazan yavrularında eritrositlerindeki mikronüklei sıklığı

	24 saat	48 saat	72 saat	96 saat
Kontrol	1.72±0.14	1.73±0.16	1.72±0.12	1.70±0.11
5 ppm	1.69±0.08	1.75±0.14*	1.69±0.09	1.73±0.13*
10 ppm	1.76±0.11*	1.83±0.17*	1.93±0.19*	2.28±0.20*
20 ppm	1.98±0.09*	2.08±0.13*	2.49±0.14*	3.81±0.17*

*Kontrol grubuna göre p<0.05

Çizelge 2. Fenole maruz kalan sazan yavrularında eritrositlerindeki çekirdek anomalileri

	24 saat	48 saat	72 saat	96 saat
Kontrol	0.11±0.01	0.12±0.01	0.11±0.01	0.14±0.02
5 ppm	0.12±0.01	0.12±0.02	0.09±0.01	0.13±0.03
10 ppm	0.24±0.01*	0.22±0.03*	0.24±0.02*	0.23±0.02*
20 ppm	0.24±0.03*	0.31±0.01*	0.45±0.02*	0.96±0.08*

*Kontrol grubuna göre p<0.05



Şekil 1. Fenole maruz kalan sazan yavrularında eritrosit görünümü. (A) normal eritrosit (B) mikronüklei özellik gösteren eritrosit

Sonuç ve Öneriler

Bu çalışmada sazan yavrularında fenol uygulaması sonrasında periferik kan eritrositlerinde görülen MN düzeyi göz önünde bulundurulursa fenolün balıklar için kuvvetli bir toksik madde olduğu açıkça söylenebilir. Bununla birlikte fenol ve diğer kirletici maddelerin mutajenik ve genotoksik etkilerinin ortaya konması için daha ayrıntılı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır. Özellikle, bu gibi kirleticilerin balıklarda ve diğer akuatik organizmalarda DNA metabolizması üzerine etkileri üzerine çalışmalara önem verilmelidir.

Teşekkür: Makale 05-08 Eylül 2017 tarihlerinde Tiflis -Gürcistan’da düzenlenen “2nd International Science Symposium (ISS2017)” sözlü olarak sunulmuştur.

Etik Kurul Onay: Bu makale yer alan hayvan deneyi için “Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu”nun Tarih: 27.1.2017 Toplantı No 2017-1, Dosya No: 2017-1 ve Karar No:2017/01 sayılı kararı ile Etik Kurul Onayı almıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı: Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti: Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

Kaynaklar

Abu Ait, N.A. 2014. Genotoxic, hematological and biochemical changes induced by phenol exposure in African Catfish (*Clarias gariepinus*). *Global Veterinaria*, 13 (3): 316-324.

Al-Sabti, K. 1992. Monitoring the genotoxicity of radiocontaminants in Swedish lakes by fish micronuclei. *Cytobios*, 70 (281): 101-106.

Al-Sabti, K. 1994. Micronuclei induced by selenium, mercury, methyl mercury and their mixtures in binucleated blocked fish erythrocyte cells. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 320 (1-2): 157-163.

Al-Sabti, K. ve Metcalfe, C.D. 1995. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 343: 121–135.

Ansoar-Rodríguez, Y., Christofoletti, C.A., Marcato, A.C., Correia, J.E., Bueno, O.C., Malaspina, O. ve Fontanetti, C.S. 2015. Genotoxic potential of the insecticide imidacloprid in a non-target organism (*Oreochromis niloticus*-Pisces). *Journal of Environmental Protection*, 6, 1360-1367.

Bahari, I.B., Noor, F.M. ve Daud, M.N. 1994. Micronucleated erythrocytes as an assay to assess actions by physical genotoxic agents in *Clarias gariepinus*. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 313 (1): 1-5.

Black, E.C. 1955. Blood levels of haemoglobin and lactic acid in some freshwater fishes following exercise. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 12 (6): 917-929.

Bolognesi, C. ve Hayashi, M. 2011. Micronucleus assay in aquatic animals. *Mutagenesis*, 26 (1): 205-213.

Candiotti, J.V., Soloneski, S. ve Larramendy, M.L. 2010. Genotoxic and cytotoxic effects of the formulated insecticide aficida® on *Cnesterodon decemmaculatus* (Jenyns, 1842) (Pisces: Poeciliidae). *Mutation Research*, 703, 180-186.

Çavaş, T. ve Könen, S. 2007. Detection of cytogenetic and DNA damage in peripheral

- erythrocytes of goldfish (*Carassius auratus*) exposed to a glyphosate formulation using the micronucleus test and the comet assay. *Mutagenesis*, 22 (4): 263-268.
- Çavaş, T. ve Könen, S. 2008. "In vivo genotoxicity testing of the amnesic shellfish poison (Domoic acid) in piscine erythrocytes using the micronucleus test and the comet assay". *Aquatic Toxicology*, 90: 154-159.
- Dar, S.A., Yousuf, A.R., Balkhi, M.H., Ganai, F.A. ve Bhat, F.A. 2015. Assessment of endosulfan induced genotoxicity and mutagenicity manifested by oxidative stress pathways in freshwater cyprinid fish crucian carp (*Carassius carassius* L.). *Chemosphere*, 120: 273-283.
- Escher, B.I. 2001. Molecular mechanisms in aquatic ecotoxicology: Specific and Non-Specific Membrane Toxicity A Habilitation Thesis in Environmental Chemistry and Ecotoxicology Zurich.
- Fenech, M., Chang, W.P., Kirsch-Volders, M., Holland, N., Bonassi, S. ve Zeiger, E. 2003. HUMN Project: Detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 534: 65–75.
- Fuchs-Tarlovsky, V. 2013. Role of antioxidants in cancer therapy. *Nutrition*, 29 (1): 15–21.
- Garg, S., Gupta, R.K. ve Jain, K.L. 2009. Sublethal effects of heavy metals on biochemical composition and their recovery in indian major carps. *Journal of Hazardous Materials*, 163: 1369–1384.
- Hedde, J.A., Hite, M., Jrkhar, B., Macgregor, J. ve Salamone, M. 1983. The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 123: 61–118.
- Hori, T.S.F., Avilez, I.M., Inoue, L.K. ve Moraes, G. 2006. Metabolical changes induced by chronic phenol exposure in matrinxã *Brycon amazonicus* (Teleostei: Characidae) juveniles. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 143: 67-72.
- Inyinbor Adejumo, A., Adebisin Babatunde, O., Abimbola, O. ve Adelani-Akande Tabitha, A. 2018. Water Pollution: Effects, prevention, and climatic impact. In water challenges of an urbanizing world; Matjaž, G., Ed.; IntechOpen: Rijeka, Croatia, 33: 33-52.
- Khan, G., Kuek, C., Chaudhary, T., Fhoo, C. ve Hayes, W. 2000. Role of Mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere*, 41: 197-207.
- Kumar, P., Prasad, Y., Patra, A.K., Ranjan, R., Swarup, D., Patra, R.C. ve Pal, S. 2009. Ascorbic acid, garlic extract and taurine alleviate cadmium-induced oxidative stress in freshwater catfish (*Clarias batrachus*). *Science of the Total Environment*, 407: 5024–5030.
- Ma, P., Wang, M.W., Liu, H., Chen, Y.F. ve Xia, J. 2019. Research on ecotoxicology of microplastics on freshwater aquatic organisms. *Environmental Pollutants and Bioavailability*, 31(1): 131–137.
- Machado Da Rocha, C.A., Santos, R.A.D., Bahia, M.D.O., Cunha, L.A.J.D., Ribeiro, H.F. ve Burbano, R.M.R. 2009. The micronucleus assay in fish species as an important tool for xenobiotic exposure risk assessment. a brief review and an example using neotropical fish exposed to methylmercury. *Reviews in Fisheries Science*, 17(4): 478–484.
- Mishra, A. ve Poddar, A.N. 2013. Haematology of freshwater murrel (*Channa punctatus* Bloch), exposed to phenolic industrial wastes of the bhilai steel plant (Chhattisgarh, India). *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 4 (4): 1866-1883.
- Sergene, S., Çavaş, T., Karahan, A. ve Portakal, E. 1999. Methamidophos'un *Clarias lazera* (Valeciennes, 1840) üzerindeki genotoksik etkilerinin eritrosit mikronukleus testi ile belirlenmesi. *Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 19 (1): 27-34.
- Stegeman, J.J. ve Lech, J.J. 1991. Cytochrome P-450 Monooxygenase systems in aquatic species. carcinogen metabolism and biomarkers for carcinogen and pollutant exposure. *Environmental Health Perspectives*, 90: 101-109.
- Stegeman, J.J., Brouwer, M., Richard, T.D.G., Förlin, L., Fowler, B.A., Sanders, B.M. ve Van, Veld P.A. 1992. Molecular responses to environmental contamination: enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect, in R.J. Huggett, R.A. Kimerly, P.M. Mehrle, Jr., and H.L. Bergman, (Eds.), Biomarkers: Biochemical, Physiological and Histological Markers of Anthropogenic Stress. CRC/Lewis Publishers, Chelsea, MI, pp. 235–335.
- Traas, T.P. ve Van Leeuwen, C.J. 2007. *Ecotoxicological effects*. In C. J. van Leeuwen & T. G. Vermeire, eds. Risk assessment of Chemicals - An introduction. Springer, pp. 281–356.

- Yılayaz, Ö. 2005. Parathion methyl (insektisit)'in *Barbus rajanorum mystaceus* (Heckel,1843) üzerindeki genotoksik etkisinin eritrosit mikronukleus testi ile belirlenmesi. *Doğu Anadolu Böl. Araştırmaları Dergisi*, 4 (1): 72-76.
- Yılayaz, Ö. 2006. Parathion Methyl (insektisit)'in *Capoeta trutta* (HECKEL, 1843) üzerindeki genotoksik etkisinin eritrosit mikronukleus testi ile belirlenmesi. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları Dergisi*, 4, (2): 1-5.
- Zaki, M.S., Fawzi, O.M. ve Shalaby, S.I. 2011. Phenol toxicity affecting hematological changes in cat fish (*Clarius lazera*). *Life Science Journal*, 8 (2): 244-248.