



## ARAŞTIRMA MAKALESİ

### Gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) bakır sülfat pentahidrat ile oluşturulan akut ve kronik bakır toksikasyonunda patolojik incelemeler

Sema Öztürk<sup>1\*</sup>, Hamdi Avcı<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Su ürünleri Mühendisliği, <sup>2</sup>Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye  
Geliş: 17.11.2016, Kabul: 11.01.2017

\*sema.ozturk@adu.edu.tr

### Pathological findings in acute and chronic copper toxicity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) occurred by copper sulfate pentahydrate

Eurasian J Vet Sci, 2017, 33, 2, 97-106

DOI:10.15312/EurasianJVetSci.2017.143

#### Öz

**Amaç:** Bu çalışmada bakır sülfat pentahidrat ile gökkuşuğu alabalıklarında deneysel akut ve kronik bakır toksikasyonu modeli oluşturulması ve klinik, makroskopik ve mikroskopik bulgularının incelenmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmada, 30 adet gökkuşuğu alabalığı iki deneme grubu [(Akut Grup (Grup I), n: 10 - Kronik Grup (Grup III), n:10)] ve iki kontrol grubu [(Akut Kontrol Grup (Grup II), n: 5 - Kronik Kontrol Grup (Grup IV), n: 5)] olmak üzere dört gruba ayrıldı. Grup I'de bulunan balıklara 2 mg/L 5 gün ve Grup III'te bulunan balıklara ise 0.5 mg/L bakır sülfat pentahidrat olacak şekilde 21 gün uygulandı.

**Bulgular:** Makroskopik incelemede Grup I'de karaciğerler şişkin ve konjesyonluydu. Solungaçlar ödemli, bağırsaklar ise hiperemikti. Grup III'te karaciğerin renginde açılmalar dikkati çekti. Solungaçlar solgun, deri yüzeyi ise mukusla kaplıydı. Grup I'de en belirgin mikroskopik bulguya karaciğerlerde rastlandı. Hepatositlerde dejenerasyonlar, solungaçlarda ödem, hiperemi ve kanamalardan oluşan vasküler lezyonlar ile birlikte epitellerde nekrotik değişiklikler saptandı. Böbrekte, tubulus epitellerinde yaygın dejenerasyonlar ile epitel sitoplazmalarında değişen büyüklüklerde eozinofilik hiyalin damlacıkları mevcuttu. Bakır sülfat pentahidratın düşük dozda verildiği Grup III'te hepatositlerde dejenerasyonlar yaygın olarak görüldü. Olguların tamamında hepatositlerin çekirdeklerinin veziküler görünümde olduğu dikkati çekti. Solungaçlarda hiperplaziler sonucu kalınlaşmalar oldukça belirgindi. Deride epidermiste mukus hücrelerinde artış ile hidropik dejenerasyon görüldü.

**Öneri:** Sonuç olarak, gökkuşuğu alabalıklarında su içerisindeki bakır sülfat pentahidrat miktarının alabalık yetiştiriciliğinde dikkate alınması önerilir.

**Anahtar kelimeler:** Gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), bakır, patoloji, toksikasyon

#### Abstract

**Aim:** In this study, it was aimed an experimental model of acute and chronic copper toxicity in the form of rainbow trout with copper sulfate pentahydrate and investigate the clinic, macroscopic and microscopic findings.

**Materials and Methods:** In the present study, thirty rainbow trout were divided into four groups: Two experiment [(Acute Group (Group I), n:10 - Chronic Group (Group III), n:10)] and two control groups [(Acute Control Group (Group II), n:5 - Chronic Control Group (Group IV), n:5)]. Copper sulphate pentahydrate was given 2 mg/L for a 5 days and 0.5 mg/L for a 21 days in Group I and III, respectively.

**Results:** Macroscopically, livers were swollen and had dark red color in Group I. Gills were oedematous. In Group III, liver had remarkable pale color. Gill were pale and skin was covered by mucous. In Group I, the most salient microscopic finding was seen in the liver. Degenerations were seen widely in hepatocytes. In the gills, epithelial necrotic changes with vascular lesions including edema, hyperemia and hemorrhage were observed. In the kidney, there were degeneration and eosinophilic hyalin droplets with variable sized in the cytoplasm of tubular epitheliums. Liver had diffusive degenerations in Group III. Hepatocyte nucleus has remarkable vesicular appearance in all findings. There was obvious thickness caused by hyperplasia in the gills. There was an increase in the number of mucous cell and hydropic degeneration on epithelial cells in the epidermis of the skin.

**Conclusion:** As a result, it is recommended to consider the concentration of copper sulfate pentahydrate in water in rainbow trout aquaculture.

**Keywords:** Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), copper, pathology, toxication



## Giriş

Bakır doğal olarak doğada bulunan, insanlar, memeli hayvanlar, balıklar ve kabuklu canlılarda pek çok vücut fonksiyonunda kullanılmak üzere ihtiyaç duyulan esansiyel iz elementlerden biridir (Li ve ark 1996, Paris-Palacios ve ark 2000, Puig ve Thiele 2002). Suda geniş şekilde yayılım gösteren bakırın, su ile bitki ve hayvanlara ulaşarak biyobirikime sebep olduğu bildirilmiştir (Avenant-Oldewage ve Marx 2000, Naigaga 2002). Ancak yüksek konsantrasyonlarda bakır içeren sular, hem suda yaşayan canlılar hem de bu canlıları tüketen başta insanlar olmak üzere diğer canlılar açısından tehlikeli bir durum oluşturabilmektedir (Dağ ve ark 2000, ATSDR 2004, Wijmenga ve Klomp 2004, Siemering ve ark 2005).

Bakır sülfat, dikuat dibromür, endotal, floridone, glyphozat-bazlı herbisitler, malatyon ve metopren dünya genelinde yaygın şekilde kullanılan akuatik pestisitlerdendir (Siemering ve ark 2005). Bakır sülfat, akuatik pestisit olarak; basit bakır sülfat, bakır sülfat pentahidrat ve şelat bakır sülfat formlarında kullanılır. Bakır sülfat sulama ve şehir suyu iyileştirme sistemlerinde bir algisit olarak kullanılırken, bakır sülfat pentahidrat fungusit, algisit ve herbisit olarak hem tarımda hem de tarım dışı alanlarda kullanılmaktadır (Siemering ve ark 2005, NPIC 2014). Bakır ve bakır bileşiklerinin yüksek konsantrasyonlarının sucul canlılarla karşılaşması halinde, akut ya da kronik seyirli toksisite oluşturabilmektedir. Toksikasyonun derecesi ise su ve çevre koşullarına, ayrıca canlının fizyolojik durumuna göre değişkenlik göstermektedir (Campana ve ark 2003, FAO 2007, Roberts 2012).

Sunulan bu çalışmada gökkuşuğu alabalıklarında, bakır sülfat pentahidrat toksikasyonunun deneysel olarak farklı dozlarda oluşturulması ve balıklarda görülen klinik, makroskobik ve mikroskobik bulgularının kapsamlı olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

### Denemede kullanılan balıklar

Çalışmada, Kemer Hayvancılık Tarım Tic. Ltd. A.Ş. (Bozdoğan, Aydın) alabalık işletmesinden temin edilen 30 adet ( $80 \pm 10$

g, 10-12 cm) gökkuşuğu alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) kullanıldı. Oksijen takviyeli taşıma tankları ile getirilen balıklar Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı'nda önceden hazırlanmış olan deneme havuzlarına alındı. Uygulamadan önce balıkların ortama adapte olmaları için 21 gün beklendi. Adaptasyondan sonra 20 adet deneme grubu ve 10 adet kontrol grubu olmak üzere toplam 30 adet gökkuşuğu alabalığı denemede kullanıldı. İki deneme ve iki kontrol grubu olmak üzere toplam dört grup üzerinden yürütülen çalışmada grupların balık sayıları, bakır sülfat pentahidratın uygulama dozları ve balıkların havuzlarda bekletilme süreleri Tablo 1'de sunuldu. Ayrıca her iki kontrol grubunda bulunan balıkların aynı süreler içinde havuzlarda bekletilmeleri sağlandı. Gruplandırma-yı takip eden ilk iki gün ortam değişikliği nedeniyle balıklara yem verilmedi. Sonraki günlerde iki numaralı pelet yem (Agromey Gıda Yem ve San. Tic. A.Ş.) ile her gün yemleme yapıldı.

Grup I'de uygulama süresince balıkların tamamında ölüm görüldü. Grup III'te ise beş balıkta ölüm görüldü, 5 balığa ise ötanazi uygulandı. Karşılaştırmalı inceleme yapabilmek için deneme gruplarında ölen balık sayısı kadar kontrol gruplarından balık ötanazi edilerek nekropsileri yapıldı. Grup II'de, 3. gün iki (Olgu no: 1, 2), 4. gün iki (Olgu no: 3, 4) ve 5. gün bir (Olgu no: 5) olmak üzere toplam beş balığa ötanazi uygulandı. Grup IV'de ise 18. gün iki (Olgu no: 1, 2), 20. gün bir (Olgu no: 3) ve 21. gün iki (Olgu no: 4, 5) olmak üzere toplam beş balığa ötanazi uygulandı. Çalışma dizaynı, Adnan Menderes Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından (No: 64583101/2013/011) onaylandı.

### Denemede kullanılan kimyasal

Çalışmada balıklara su içerisine ilave edilerek verilen bakır sülfat pentahidrat (Sigma-Aldrich, Katolog no; 12849;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) kullanıldı.

### Denemede kullanılan havuzların özellikleri

Çalışmada her biri 100 x 70 x 50 cm boyutlarında 4 adet havuz kullanıldı. Balıklar konulmadan önce havuzlar %5'lik formaldehit solüsyonu ile iki saat süreyle dezenfekte edildi (Erer 2002).

Tablo 1. Grupların sınıflandırılması ve bakır sülfat pentahidrat'ın balıklara uygulama miktarları.

Grup No	Grup Adı	Bakır sülfat Pentahidrat Uygulama Miktarı	Balık Sayısı (n)	Uygulama Süresi
Grup I	Akut Grup	2 mg/L	10	5 gün
Grup II	Akut Kontrol Grup	-	5	-
Grup III	Kronik Grup	0.5 mg/L	10	21 gün
Grup IV	Kronik Kontrol Grup	-	5	-





Tablo 2. Bakır sülfat pentahidrat verilen gökkuşağı alabalıklarında ölüm günleri, klinik ve makroskobik bulgular (Grup I).

Olgu No	Ölüm Günleri	Klinik Bulgular				Makroskobik Bulgular																												
		Yem tüketiminde azalma	Hareketlerde azalma	Su yüzeyine yakın yüzme	Düzensiz yüzme	Karaciğer				Solungaç				Bağırsak				Mide ve Pilorik Keseler				Hava Kesesi		Böbrek		Dalak		Deri						
						Ödem	Hiperemi	Kanama	Yumuşak kıvamlilik	Solgunluk	Hiperemi	Kanama	Mukus artışı	Hiperemi	Kanama	Kırmızı renkli içerik	Şişkinlik	Hiperemi	Kanama	Şeffaf renkli içerik	Kırmızı renkli içerik	Matlaşma	Yumuşak kıvamlilik	Yumuşak kıvamlilik	Renkte koyulaşma	Şişkinlik	Yumuşak kıvamlilik	Renkte koyulaşma	Şişkinlik	Renkte açılma	Renkte koyulaşma	Mukus artışı		
1	3. gün*	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-		
2	3. gün*	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
3	3. gün*	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	
4	4. gün*	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	
5	4. gün*	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	
6	4. gün*	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
7	5. gün*	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	
8	5. gün*	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-
9	5. gün*	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
10	5. gün*	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	

\*: ölüm, (-) Klinik/makroskobik bulgu görülmedi, (+) klinik/makroskobik bulgu görüldü.

Tablo 3. Bakır sülfat pentahidrat verilen gökkuşağı alabalıklarında ölüm günleri, klinik ve makroskobik bulgular (Grup III).

Olgu No	Ölüm Günleri	Klinik Bulgular				Makroskobik Bulgular																												
		Yem tüketiminde azalma	Hareketlerde azalma	Su yüzeyine yakın yüzme	Düzensiz yüzme	Ödem	Hiperemi	Kanama	Yumuşak kıvamlilik	Solgunluk	Hiperemi	Kanama	Mukus artışı	Hiperemi	Kanama	Kırmızı renkli içerik	Şişkinlik	Hiperemi	Kanama	Şeffaf renkli içerik	Kırmızı renkli içerik	Matlaşma	Yumuşak kıvamlilik	Yumuşak kıvamlilik	Renkte koyulaşma	Şişkinlik	Yumuşak kıvamlilik	Renkte koyulaşma	Şişkinlik	Renkte açılma	Renkte koyulaşma	Mukus artışı		
1	18. gün*	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	
2	18. gün*	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
3	18. gün*	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	
4	19. gün*	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	
5	20. gün*	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	
6	21. gün**	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
7	21. gün**	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	
8	21. gün**	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-
9	21. gün**	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
10	21. gün**	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	

\*: ölüm, (-) Klinik/makroskobik bulgu görülmedi, (+) klinik/makroskobik bulgu görüldü.



### Denemede kullanılan su

Suyun mikrobiyolojik ve kimyasal analizleri Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'nda yapıldı. Sudaki çözünmüş oksijen miktarı Aydın Tarım İl Müdürlüğü Laboratuvarı tarafından ölçüldü. Bu analizler sonucunda, sudaki çözünmüş oksijen miktarı alındığı kaynakta 6.43 mg/L, havalandırma sonrası havuzlara gelen suda 11.35 mg/L, havuzlarda ise 10.27 mg/L

değerlerinde ölçüldü. Suyun sertlik derecesi 29 Fransız sertlik derecesi, pH'ı ise 7.6 olarak belirlendi. Mikrobiyolojik analizlerde herhangi bir patojen bakterinin izole edilmediği bildirildi. Suyun sıcaklığı ise deneme süresince 16°C olacak şekilde devam ettirildi.

### Patolojik inceleme

Balıkların nekropsilerini takiben balıkların tüm dokuları %10'luk tamponlu formalin solüsyonunda tespit edildi.

Tablo 4. Bakır sülfat pentahidrat verilen gökkuşuğu alabalıklarında mikroskopik bulguların Grup I ve Grup III'e göre dağılımı

Organ	Mikroskopik bulgular	Grup I	Grup III	Organ	Mikroskopik bulgular	Grup I	Grup III	
Karaciğer	Ödem	10/10	10/10	Bağırsak	Ödem	10/10	7/10	
	Hiperemi	10/10	7/10		Hiperemi	10/10	6/10	
	Kanama	5/10	3/10		Kanama	8/10	5/10	
	Dejenerasyon	10/10	10/10		Epitellerde dejenerasyon	10/10	10/10	
	Nekroz	9/10	5/10		Epitellerde dökülme	10/10	10/10	
	Yağlanma	9/10	6/10		Epitellerde nekroz	7/10	3/10	
	Çekirdek değişiklikleri	2/10	10/10		Goblet hücrelerinde artış	3/10	7/10	
Solungaç	Ödem	10/10	10/10	Eozinofilik granüler hücrelerde artış	0/10	2/10		
	Hiperemi	8/10	6/10		Pilorik Keseler	Ödem	10/10	5/10
	Kanama	5/10	1/10			Hiperemi	10/10	5/10
	Epitel Nekrozu	9/10	6/10			Kanama	8/10	5/10
	Epitellerde dökülme	8/10	9/10			Epitellerde dejenerasyon	10/10	9/10
	Telangiyektazi	2/10	3/10			Epitellerde dökülme	10/10	8/10
	Hücre infiltrasyonu	0/10	6/10			Epitellerde nekroz	7/10	3/10
Hiperplazi	1/10	10/10	Goblet hücrelerinde artış	3/10		7/10		
Kalp	Hiperemi	10/10	3/10	Eozinofilik granüler hücrelerde artış	0/10	0/10		
	Endomizyumda ayrılma	10/10	10/10		Mide	Ödem	8/10	2/10
	Endotelial makrofaj aktivasyonu	3/10	10/10			Hiperemi	6/10	3/10
	Kaslarda dejenerasyon	5/10	9/10			Kanama	3/10	2/10
	Kaslarda nekroz	0/10	8/10			Epitellerde dejenerasyon	10/10	7/10
	Çekirdek değişiklikleri	2/10	8/10			Epitellerde dökülme	7/10	7/10
Böbrek	Ödem	10/10	5/10	Deri		Epitellerde nekroz	6/10	2/10
	Hiperemi	10/10	6/10		Eozinofilik granüler hücrelerde artış	0/10	0/10	
	Kanama	10/10	3/10		Bez epitellerinde dejenerasyon	5/10	2/10	
	Tubulus bazal membranlarında ayrılma	10/10	2/10		Ödem	10/10	10/10	
	Tubulus epitellerinde dejenerasyon	10/10	6/10		Dejenerasyon	10/10	10/10	
	Epitellerde hiyalin damlacıkları	10/10	0/10		Nekroz	10/10	4/10	
	Melanomakrofaj merkezlerde artışlar	2/10	9/10		Mukus hücrelerinde artış	10/10	10/10	

(n: Balık sayısı)





Doku örnekleri, doku takip cihazında (Leica TP1020) otomatik olarak, alkol, ksilol ve parafin serilerinden geçirildikten sonra parafinde bloklandı. Bu bloklardan mikrotomda (Leica RM2135) 5-6 µm kalınlığında alınan doku kesitlerinin tamamı hematoksilin-eozin (H.E.), gerekli görülenler yağ için Oil Red O ile boyanarak (Culling 1985) ışık mikroskopunda incelendi.

## Bulgular

Grup I ve Grup III'e ait ölümlere ilişkin bilgiler ile klinik ve makroskobik bulguların dağılımı Tablo 2 ve Tablo 3'de verildi ve bulgular var (+) ya da yok (-) şeklinde karşılaştırmalı dağılımı değerlendirildi. Her iki gruptaki balıklarda görülen mikroskobik bulguların dağılımı Tablo 4'de sunuldu.

### Klinik Bulgular

#### Grup I

Çalışmada ilk ölümler Grup I'de uygulamanın 3. gününde, Grup III'te ise uygulamanın 18. gününde görüldü. Grup I'de



Şekil 1. A. Karaciğerde konjesyon (okbaşı) ve bağırsakta hiperemi (ok), olgu no; 5, Grup I. B. Karaciğerde normal görünüm (ok), Kontrol grubu, olgu no; 3, Grup II.



Şekil 2. A. Solungaçlarda solgunluk (ok), olgu no; 3, Grup III. B. Kontrol grubu (ok), olgu no; 1, Grup IV.

uygulamanın 3. ve 4. günlerinde ölen birer balıkta ters yüzme hareketi görüldü. Diğer balıklarda ise yem tüketiminde azalma, hareketlerinde belirgin yavaşlama ve su yüzeyine yakın yüzmeler gözlenen diğer klinik bulgulardandı. Kontrol grubundaki balıklarda klinik bulguya rastlanmadı.

#### Grup III

Grup III'te 18. gün ile 19. günde ölen birer balıkta ters ve dik yüzme hareketleri gözlemlendi. Uygulamanın 18. ve 19. günlerinde ölen diğer balıklarda yeme karşı ilgisizlik, hareketlerde azalma ve su yüzüne yakın yüzmeler saptandı. Yirmibirinci günde ötanazi edilen balıklarda ise yalnızca yem tüketiminde azalma ile hareketlerinde hafif yavaşlama görüldü. Ayrıca bu grupta ölen ya da ötanazi edilen balıkların gelişimlerinin yavaş olduğu görüldü. Kontrol grubundaki balıklarda klinik bulguya rastlanmadı.

#### Makroskobik bulgular

Uygulama gruplarında şekillenen makroskobik bulguların dağılımı, bakır sülfat pentahidrat'ın uygulama dozuna göre farklılıklar gösterdi. Bakır sülfat pentahidrat'ın 2 mg/L verildiği Grup I'de ölen balıklarda makroskobik bulgular, karaciğer, solungaç ve bağırsaklarda gözlemlendi. Bakır sülfat pentahidrat'ın 0.5 mg/L verildiği Grup III'te ise en belirgin makroskobik bulgulara solungaçlarda ve deride saptandı.

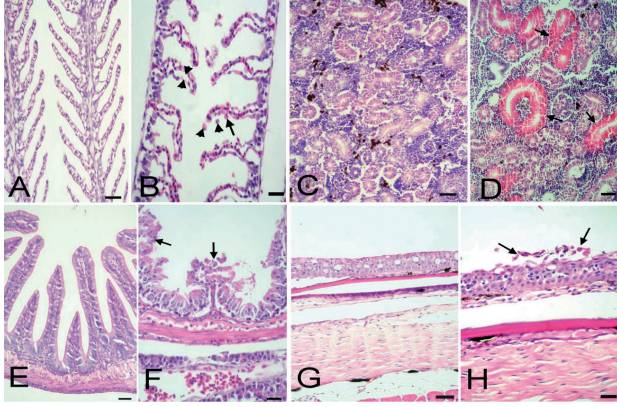
#### Grup I

Tüm olgularda karaciğerler şişkin ve konjesyonlu (Şekil 1). Uygulamanın 3. ve 4. günlerinde ölen birer balıkta karaciğerin pariyetal yüzünde hafif peteşiyel kanamalar gözlemlendi. Solungaçlar 3., 4. ve 5. günde ölen birer balıkta hafif hiperemikti. Diğer günlerde ölen balıklarda ise solungaçlar ödemli ve yüzeyleri bol mukus ile kaplıydı. Sindirim sisteminde en belirgin lezyon bağırsaklarda saptandı. Çalışmada 3., 4. ve 5. günlerde ölen ikişer balıkta bağırsaklarda hiperemi, lümenlerinde ise sulu kıvamlı açık kırmızı renkte bir içerik bulundu. Serozal yerleşimli kanamalara ise 3. günde ölen iki balık ile 4. ve 5. günde ölen birer balıkta saptandı. Safra kesesi, 3. (Olgu no: 2) ve 4. (Olgu no: 4) günde ölen birer balıkta koyu yeşilimsi renkte ve koyu kıvamlı safra ile dolu durumdaydı. Üçüncü (Olgu no: 1) ve 4. günde (Olgu no: 6) ölen birer balıkta yağ dokuda peteşiyel kanamalar dikkati çekti. Dalaklar şişkindi, bazı olgularda ise kolay parçalanabilir özellikteydi. Böbreklerde dikkati çeken tek bulgu ise yumuşak kıvamlılık idi.

#### Grup III

Grup III'te 18. ve 19. günde ölen birer balıkta karaciğerler hiperemikti. Yirmibirinci günde ötanazi edilen üç balıkta (Olgu no: 7, 9, 10) organın rengine hafif açılmalar dikkati çekti. Grup III'te tüm olgularda solungaçlar solgundu (Şekil 2).





Şekil 3. A. Solungaç, Kontrol grubu, HE., Bar: 100µm, olgu no; 3, Grup II. B. Solungaç. Sekunder solungaç epitellerinde dökülme (okbaşları) ve nekroz (ok), HE., Bar: 30µm, olgu no; 4, Grup I. C. Böbrek, Kontrol Grubu, HE., Bar: 50µm, olgu no; 2, Grup II. D. Böbrek. Tubulus epitellerinde yaygın dejenerasyon ve hiyalin damlacıkları (oklar), HE., Bar: 50µm, olgu no; 4, Grup I. E. Pilorik Kесе. Kontrol grubu, HE., Bar: 100µm, olgu no; 3, Grup II. F. Pilorik kese. Epitellerde nekrozlar (oklar) HE., Bar: 30µm, olgu no; 3, Grup I. G. Deri. Kontrol grubu, HE., Bar: 100µm, olgu no; 4, Grup II. H. Deri. Epidermiste nekroz (oklar), HE., Bar: 50µm, olgu no; 2, Grup I.

İki olguda solungaç kemeri boyunca çizgi şeklinde yerleşim gösteren hiperemi görüldü. Tüm olgularda deri renginde açılmalar oldukça belirgindi. Deri yüzeyi genellikle mukus ile kaplıydı. Hava keseleri şişkin ve kontrol gruplarına göre hafif mat görünümlüydü. Onsekizinci ve 19. günde ölen ikişer balık dışında dalaklar şişkin ve sert kıvamlıydı. Mide, pilorik keseler ile bağırsakların lümenleri koyu kıvamlı şeffaf bir içerikle doluydu.

#### Mikroskopik bulgular

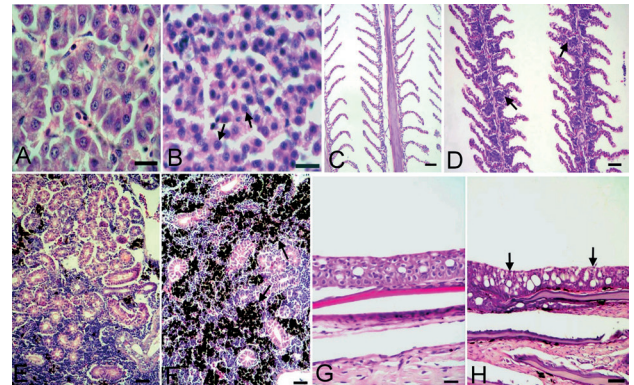
##### Grup I

En belirgin mikroskopik bulgular karaciğerlerde görüldü. Şekillenen lezyonlar tüm olgularda benzerlik göstermekteydi. Bu lezyonlar, hiperemi ve kanamalardan oluşan vasküler lezyonlar ile dejenerasyon ve hepatositlerin çekirdeklerinde görülen değişikliklerden oluşmuştu. Birçok alanda vena sentralisler ve sinüzoidler hiperemikti. Kanamalar genellikle subkapsular yerleşimli idi. Adenoid yapıların düzeni bozulmuştu. Hepatositlerin sitoplazmaları şişkin, granüler görünümde ve bazı hepatositlerin hücre sınırları seçilememekteydi. Olguların tamamında gözlenen nekrozlar genellikle tek hücre nekrozları şeklindeydi. Bu alanlarda hepatosit sitoplazmaları koyu eozinofilik görünümde, çekirdekleri ise piknotikti. Karaciğerde dikkati çeken diğer mikroskopik bulgu ise az sayıda hepatosit çekirdeğinde veziküler yapı ile karyomegali'den oluşan değişiklikler idi. Bazı hepatositlerin sitoplazmalarında değişen büyüklüklerde keskin kenarlı yağ vakuolleri görüldü ve bunların Oil Red O ile boyamada yağ vakuolleri olduğu saptandı.

Solungaçlarda ödem, hiperemi, kanama ve sekonder lamel epitellerinde dejenerasyonlar ile yer yer nekrozlar belirlendi (Şekil 3B). Hiperemi, primer ve sekonder lameller ile birlikte solungaç kemeri damarlarında da görüldü. Bazı alanlarda

genişlemiş olan bu damarların lümenleri koyu eozinofilik plazma sıvısı ile doluydu. Sekunder lamel epitellerinde ödeme ilişkin ayrılmalar ve bazı olgularda yer yer dökülmeler görüldü. Dejeneratif epitellerin çekirdekleri genellikle şişkin, sitoplazmaları koyu eozinofilik renkteydi. Küçük çaplı telangiektaziler iki balıkta saptandı. Kalpte epikardiyal damarlar hiperemikti. Vasküler lezyonların şiddetli olduğu olgularda miyokardın spongiyöz tabakasını oluşturan kas demetleri arası eritrositler ile doluydu. Tüm olgularda endomizyumlarda ayrılmalar belirgindi. Uygulamanın 4. gününde ölen bir balık ile 5. günde ölen iki balıkta endotelial makrofaj aktivasyonu görüldü. Ayrıca 4. ve 5. günlerde ölen bazı balıklarda miyositlerin çekirdeklerinin şişkin olduğu dikkati çekti. Olguların tamamında böbrekte hiperemi ve kanamalar belirlendi. Böbrek tubulus epitellerinde dejeneratif ve nekrotik değişiklikler görüldü. Tubulusların epitellerinde değişen büyüklüklerde hiyalin damlacıkları görüldü (Şekil 3D). Çalışmada 5. günde ölen iki balıkta ise kontrol gruplarına göre hafif dereceli melanomakrofaj merkezlerde artışlar görüldü. Dalakta tüm olgularda sinüzoidler genişlemiş ve içleri koyu eozinofilik plazma ve eritrositler ile doluydu.

Sindirim sisteminde en belirgin bulgular, bağırsaklarda ve daha az olarak pilorik keseler ile midede görüldü. Bağırsaklarda ve pilorik keselerde damarlar hiperemikti. Kanamalar genellikle submukozal yerleşimliydi. Dejeneratif ve nekrotik değişiklikler hem mukoza epitellerinde hem de bez epitellerinde görüldü. Dejenerasyonların hafif görüldüğü olgularda, hücrelerin sitoplazmaları granüler görünümdeydi. Nekrotik değişikliklere üç olgu dışında (3., 4. ve 5. günlerde ölen) olguların tamamında rastlandı (Şekil 3F). Midede 3. ve 4. günde ölen birer balıkta mukozal yerleşimli kanamalar dikkati çekti.



Şekil 4. A. Karaciğer, Kontrol grubu, HE., Bar: 20µm, olgu no; 3, Grup IV. B. Karaciğer. Hepatosit çekirdeklerinde veziküler görünüm (oklar), HE., Bar: 20µm, olgu no; 5, Grup III. C. Solungaç. Kontrol grubu, HE., Bar: 50µm, olgu no; 4, Grup IV. D. Solungaç. Lamellerde interlamellar hiperplazi (oklar), HE., Bar: 100µm, olgu no; 4, Grup III. E. Böbrek. Kontrol grubu, HE., Bar: 50µm, olgu no; 1, Grup IV. F. Melanomakrofaj merkezlerde artışlar, HE., Bar: 50µm, olgu no; 1, Grup III. G. Deri. Kontrol grubu, HE., Bar: 50µm, olgu no; 1, Grup IV. H. Deride mukus hücrelerinde artış (ok) ve dejenerasyon (okbaşları), HE., Bar: 100µm, olgu no; 3, Grup III.



Deride epidermiste fokal alanlar şeklinde epitellerde dökülmeler saptandı. Dökülen epiteller piknotik çekirdekli ve koyu eozinofilik sitoplazmalı idi (Şekil 3H). Deride gözlenen diğer mikroskopik bulgu ise epidermiste mukus hücrelerinde artışlar idi.

### Grup III

Karaciğerde hepatositler arasında ödem tüm olgularda görüldü. Tüm olguların karaciğerlerinde dejenerasyonlara yaygın olarak rastlanırken beş balıkta nekroz görüldü. Bu grupta en dikkati çeken histopatolojik bulgu ise hepatositlerin çekirdeklerinde gözlenen veziküler görünüm idi (Şekil 4B). Ayrıca birçok hepatosit sitoplazmasında, değişen büyüklüklerde keskin kenarlı yağ vakuollerini hem ölen hem de ötanazi edilen balıklarda mevcuttu. Oil Red O ile yapılan boyamada bunların yağ vakuollerini olduğu saptandı.

Solungaçlarda ödem ve hiperemiler birçok olguda rastlandı. Ödem şiddetli olduğu olgularda sekonder lamellerin epitellerinde ayrılmalar ve dökülmeler belirgindi. Olguların tamamında değişen şiddette hiperplaziler solungaçlarda gözlenen yaygın histopatolojik bulgulardandı (Şekil 4D). Hiperplazi bazı alanlarda yalnızca sekonder lamellerin dip kısımlarında bulunmakta iken, bazı alanlarda da sekonder lamellerin tamamen kaynaşmasına neden olmuştu. Ayrıca bu grupta solungaç kemerindeki yoğun mononükleer hücre infiltrasyonları dikkat çekiciydi. Kalpte endomizyumlarda ayrılmalar, kas demetlerinde dejenerasyonlar ve nekrozlar ile endotelial makrofajlarda aktivasyonlar görüldü. Dejenerasyon ve nekrozlar miyokardın hem spongios hem de kompakt tabakalarında da görüldü. Endotelial makrofaj aktivasyonu özellikle dejenerasyon ve nekrozların görüldüğü olgularda daha belirgindi. Miyositlerin çekirdeklerinin oldukça şişkin olduğu ve düzensiz bir yapı gösterdikleri dikkati çekti. Böbrekte intersitisyumda hiperemi ve hafif kanamalar ile tubulus epitellerinde dejenerasyonlar görüldü. Tubulus epitellerinde hiyalin damlacıklarına bu grupta rastlanılmadı. Melanomakrofaj merkezlerde dikkati çeken artışlar birçok olguda belirgindi (Şekil 4F).

Sindirim sisteminde gözlenen mikroskopik bulgular bağırsaklarda, daha az olarak pilorik keseler ile midede görüldü. Gözlenen en belirgin mikroskopik bulgu ise epitellerde şekillenen dejenerasyonlar idi. Sindirim sisteminde serozal damarlar yer yer hiperemikti. Mide bezlerinde epitel dejenerasyonlarına ise yalnızca 18. günde ölen iki olguda saptandı. Deride mukus hücrelerinde artış ve epidermis hücrelerinde intraselüler ödem belirlendi (Şekil 4H).

### Tartışma

Balıklarda bakır toksikasyonu dünyada birçok araştırmacı tarafından tanımlanmış olmasına karşın (Daoust ve ark 1984, Pelgrom ve ark 1995, Naigaga 2002, Wani ve ark

2011), Türkiye’de bu kapsamda sınırlı sayıda çalışmaya ulaşılabilmektedir (Sağlam ve Ural 2003, Atamanalp ve ark 2008). Sunulan bu çalışma ile Türkiye’de tatlı su kültür balıkçılığında önemli bir balık türü olan ve Ege Bölgesi’nde de yoğun olarak yetiştiriciliği yapılan gökkuşacağı alabalıklarında farklı doz ve sürelerde bakır sülfat pentahidrat verilerek oluşturulan deneysel bakır toksikasyonunda klinik ve patolojik bulguların karşılaştırmalı olarak incelenmesi amaçlandı.

Deneysel bakır toksikasyonu çalışmalarında kısa süreli yüksek doz uygulamalarında mortalite oranları genellikle % 25-100 arasında (Dorzab ve Barkoh 2005, Park ve Heo 2009, Zarei ve ark 2013, Oliveira ve ark 2014), uzun süreli düşük doz uygulamalarında ise mortalite oranları genellikle % 6-50 arasında olduğu bildirilmiştir (Sağlam ve Ural 2003, Dorzab ve Barkoh 2005). Çalışmada, bakır sülfat pentahidratın 2 mg/L olarak verildiği Grup I’de ölüm oranı %100, Grup III’te ise %50 olarak gerçekleşti. Deneysel çalışmada saptanan mortalite oranları literatürlerde bildirilen ölüm oranları ile benzerlik göstermektedir (Sağlam ve Ural 2003, Park ve Heo 2009). Çalışmada yüksek dozun uygulandığı grupta mortalite oranının % 100 olarak şekillenmesiyle, uygulanan dozun çalışmada belirtilen büyüklükteki gökkuşacağı alabalıkları için oldukça toksik etkili olduğu görüldü.

Çalışmada, Grup I ve Grup III’teki balıklarda gözlenen durgunluk, iştahsızlık ve düzensiz yüzme hareketleri gibi klinik bulgular literatürlerde bildirilen klinik bulgular ile benzerlik göstermekte idi (Öz 2006, Nekoubin ve ark 2012). Ayrıca bir literatürde (Varanka ve ark 2001) balıklarda deride mukus üretiminde artışa bağlı olarak suda bol köpük oluşumu bildirilirken, bu çalışmada böyle bir bulguya rastlanılmamıştır.

Bakır toksikasyonlarında doz, verilmiş süresi, balık türü ve yaşı ile birlikte balığın yaşadığı ortam olan suyun kalite kriterlerinin de bu toksikasyonun oluşmasında önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Straus ve Tucker 1993, Erickson ve ark 1996, Nekoubin ve ark 2012). Bu kriterlerden özellikle çözünmüş oksijen miktarı, pH ve su sıcaklığının oldukça önemli olduğu belirtilmiştir (Figueiredo-Fernandes ve ark 2007, Nekoubin ve ark 2012). Çalışmada kullanılan suyun pH, sertlik derecesinin ve su sıcaklığının literatürlerde belirtilen özellikler ile uyumluluk benzer özellikte olmasına rağmen, çalışmada saptanan patolojik bulgular arasında literatürlerle farklılıklar olduğu görüldü.

Bakır sülfat pentahidrat ile yapılan deneysel çalışmalarda solungaç, karaciğer ve derinin primer etkilenen organ ve dokular olduğu bildirilmiş (Daoust ve ark 1984, Pelgrom ve ark 1995, Varanka ve ark 2001, Bielmyer ve ark 2005, Dang ve ark 2009) olup, bu çalışmada da benzer bulgulara rastlanılmıştır. Makroskopik bulguların dağılımı ve şiddeti açısından deneme grupları arasında önemli farklılıklar saptandı. Kronik deneme grubuna (Grup III) göre akut de-



neme grubunda (Grup I) daha belirgin ve daha çok dokuda makroskobik bulgu belirlendi. Grup I'de ölen balıklarda makroskobik bulgular karaciğer, solungaç ve bağırsaklarda gözlenirken, Grup III'de ise en belirgin makroskobik bulgular solungaçlarda ve deride saptandı. Çalışmada gruplar arasınada saptanan bu farklılığın bakır sülfat pentahidrat'ın uygulama dozu ve süresi ile ilgili olabileceği düşünüldü.

Mikroskobik bulgularda karaciğerin özellikle kronik çalışmalarda yaygın şekilde etkilendiği bildirilmiştir (Atamanalp ve ark 2008, Park ve Heo 2009). Bu çalışmada her iki grupta literatürlerle uyumlu olarak (Paris-Palacios ve ark 2000, Sağlam ve Ural 2003) hepatositlerde dejenerasyon ve yağ vakuollerini tespit edildi. Deneme gruplarında yağlanmanın kontrol gruplarına göre daha yoğun görülmesi önemli bir bulgu olarak kaydedildi. Karaciğerde oluşan nekrozların bakırın, hepatositlerin lizozomlarında ve çekirdeğinde birikmesine bağlı olarak bu yapıların parçalanması ile ilgili olabileceği bildirilmiştir (Fuentealba ve Haywood 1988). Çalışmada her iki grupta da görülen ancak bakır sülfat pentahidrat'ın yüksek dozda verildiği Grup I'de daha çok belirlenen nekrozlar ise genellikle tek hücre nekrozları şeklinde idi. Grup III'de hepatosit çekirdeklerinde meydana gelen veziküler görünüme ise literatürlerde rastlanmadığı dikkati çekti. Grup I'de yalnızca bir kaç balıkta hafif şiddette gözlenen, Grup III'te ise balıkların tamamında saptanan bu çekirdek değişikliğini, bakırın sitotoksik etkisi ile ilgili olabileceği düşünüldü.

Solungaçlar balıklarda birçok enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz hastalıkta patolojik bulguların yaygın olarak görüldüğü organlardan birisidir (Grosell ve Woo 2002, Campagna ve ark 2008, Roberts 2012, Birincioğlu ve ark 2013, Avcı ve ark 2014). Çalışmada da her iki deneme grubunda solungaçlar en belirgin makroskobik ve mikroskobik bulguların gözlendiği organ oldu. Grup I'de gözlenen ödem, hiperemi ve kanamalardan oluşan vasküler lezyonlar ile epitel nekrozları literatür bilgileri ile uyumlu bulundu (Sağlam ve Ural 2003, Figueiredo-Fernandes ve ark 2007). Şekillenen bu hücre nekrozlarının ise bakırın yüksek doz konsantrasyonuna bağlı olarak oluşan toksikasyonunun etkisi ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Birçok araştırmacı tarafından farklı balık türlerinde, yüksek konsantrasyonlarda bakır sülfat ile yapılan deneysel toksikasyon çalışmalarında hiperplazilerin şekillendiği bildirilmiştir (De Boeck ve ark 2001, Van Heerden ve ark 2004, Wani ve ark 2011). Gökkuşluğu alabalıklarında ise ulaşılabilen literatürler doğrultusunda yalnızca bakır sülfatın merkür klorit ile birlikte verildiği çalışmada, ilk 96 saatlik periyod içerisinde az sayıda lamelde hiperplazilerin şekillendiği belirtilmiştir (Daoust ve ark 1984). Çalışmada, bakır sülfat pentahidratın düşük dozda kullanıldığı kronik grupta şekillenen hiperplaziler ile ilgili herhangi bir literatür bilgisine ulaşılamadı. Bu sebeple kronik gruptaki balıkların tamamında solungaçlarda gözlenen bu mikroskobik bulgunun kronik bakır sülfat pentahidrat

toksikasyonlarının ortaya konulması bakımından önemli olabileceği sonucuna varıldı.

Çalışmada her iki uygulama grubunda böbreklerde gözlenen vasküler değişiklikler ile tubulus epitellerindeki dejenerasyonlar literatür bulguları ile benzerlik göstermekteydi (Heo 1997, Park ve Heo 2009). Akut lezyonların şekillendiği Grup I'de tubulusların epitel sitoplazmalarında gözlenen değişen büyüklükteki eozinofilik hiyalin damlacıklarına Grup III'teki balıklarda rastlanmadı. Ayrıca çalışmada yalnızca Grup III'te tanımlanan böbrekteki melanomakrofaj merkezlerdeki artışlar önemli bulundu. Böbreklerde endojen ve ekzojen materyallerin yıkılınması, detoksifikasyonu ya da eritrofagositozisinde, enfeksiyöz etkenlere ve yabancı materyallere karşı immün cevabın geliştirilmesi gibi birçok olayda melanomakrofaj merkezlerin etkin rol oynadıkları bildirilmiştir (Ellis 1980, Agius ve Agbede 1984, Agius 1985, Herraes ve Zapata 1986, Agius ve Roberts 2003). Ayrıca bazı araştırmacılar suda bulunan toksik kimyasalların etkisine bağlı olarak da böbrekteki melanomakrofaj merkezlerde belirgin artışların görülebileceğini bildirilmiş ve bu durumun yaygın hücre hasarı ile ilgili olabileceğini belirtmişlerdir (Kranz ve Peters 1984, Kranz ve Gercken 1987, Pulsford ve ark 1992). Çalışmada yalnızca Grup III'te bulunan balıklarda tanımlanan melanomakrofaj merkezlerdeki artışlar literatürlerle uyumluluk göstermekle birlikte özellikle kronik bakır toksikasyonlarının tanımlanmasında önemli bir bulgu olabileceği düşünülmektedir.

Sunulan çalışmada sindirim sisteminde akut grupta gözlenen vasküler ve nekrotik değişiklikler, kronik grupta daha sınırlı sayıda ve yalnızca dejenerasyonlardan ibaretti. Çalışmada gruplar arasındaki bu farklılığın bakırın uygulama dozu ile yakından ilişkili olabileceği düşünüldü. Ayrıca yapılan literatür incelemelerinde gökkuşluğu alabalıklarında bakıra bağlı olarak oluşan patolojik bulguların incelendiği kapsamlı bir bilgiye ulaşılamamıştır. Çalışmada bakırın direkt olarak suya karıştırılmasına karşın, sindirim sisteminde de bulguların tanımlanması bu toksikasyonun tanımlanmasında ve ortaya konulmasında önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

Deri irrite olduğu zamanlarda özellikle mukus salgısını arttırarak yapısını korumaya çalışır. Yapılan çalışmalarda asidik sularda öncelikle değişimler nekrozla kendini göstermiş daha sonra mitotik figürler ve mukus hücrelerinin artışı izlenmiştir (Iger ve Bonga 1994). Mukus hücresi salgısı epitel, filament ve lamelleri destekler (Olson 1996). Balıklarda suda eriyen kirleticilere karşı ilk önce solungaçlarda ardından deride etkilenmeler başlar (Zimmer ve ark 2014). Deriye ilişkin literatürde farklı metallerle mikroskobik boyutta bazı çalışmalar (Iger ve ark 1994) mevcut olmasına rağmen bakırla çalışılmış literatürlerde mikroskobik bulgulara değinilmemiştir (Daoust ve ark 1984, Pelgrom ve ark 1995, Park ve Heo 2009). Çalışmada ise her iki grupta da epitel hücrelerinde dejenerasyon ve nekroz ile mukus







hücrelerinde artışlar izlenmiştir. Bulgulara bakıldığında de-jenerasyon ve mukus hücre artışı Grup III'te Grup I'e göre daha fazla iken, nekroz ise Grup I'de Grup III'e göre daha fazla izlenmiştir. Çalışmada saptanan bu farklılığın bakır sülfat pentahidrat'ın dozu ile yakından ilgili olabileceği düşünülmektedir.

### Öneri

Sunulan bu çalışmada, gökkuşuğu alabalıklarında deneysel olarak oluşturulan akut ve kronik bakır sülfat pentahidrat toksikasyonunda görülen klinik ve patolojik bulgular kapsamlı olarak değerlendirildi. Çalışmadan elde edilen sonuçlar doğrultusunda, alabalıklarda bakır sülfat pentahidrat'ın maruz kalınan konsantrasyon miktarına ve süresine bağlı olarak alabalıkların organ ve dokularında önemli patolojik bulguların şekillendiği görüldü. Bu nedenle alabalıklarda benzer patolojik lezyonların görüldüğü durumlarda su içerisindeki bakır sülfat pentahidrat konsantrasyonunun dikkat edilmesi gerektiği düşünülmektedir.

### Teşekkür

Bu çalışma, Yüksek Lisans Tezi'nden hazırlanmış olup, Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi tarafından VTF-14037 kodlu proje olarak desteklenmiştir.

### Kaynaklar

- Agius C, 1985. The Melano-macrophage centres in fish: A review. In: Fish Immunology (ed. by Manning MJ, Tatner MF). Academic Press, London, UK, pp: 85-105.
- Agius C, Agbede SA, 1984. Electron microscopical studies on the genesis of lipofuscin, melanin and haemosiderin in the haemopoietic tissues of fish. J Fish Biol, 24, 471-488.
- Agius C, Roberts RJ, 2003. Melano-macrophage centres and their role in fish pathology. J Fish Dis, 26, 499-509.
- Atamanalp M, Şişman T, Geyikoğlu F, Topal A, 2008. Histopathological effects of copper sulphate on Rainbow trout liver (Oncorhynchus mykiss). J Fish Aquat Sci, 3, 291-297.
- ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2014. Toxicological Profile for Copper. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service, Atlanta, USA, pp: 142-158.
- Avcı H, Birincioglu SS, Tanrikul TT, Epikmen ET, Metin N, Avsever ML, 2014. Experimental Lactococcus garvieae infection in Rainbow trout, Oncorhynchus mykiss, Walbaum 1792: A comparative histopathological and immunohistochemical study. J Fish Dis, 37, 481-495.
- Avenant-Oldewage A, Marx HM, 2000. Bioaccumulation of chromium, copper and iron in the organs and tissues of Clarias gariepinus in the Olifants River, Kruger National Park. Water SA, Afr J Online (AJOL), 26, 569-582.
- Bielmyer GK, Gatlin D, Isely JJ, Tomasso J, Klaine SJ, 2005. Responses of hybrid striped bass to waterborne and die-

tary copper in freshwater and saltwater. Comp Biochem Physiol C: Toxicol Pharmacol, 140, 131-137.

- Birincioglu SS, Aydoğan A, Avcı H, 2013. Investigations of winter-like disease in cultured Sea breams (Sparus aurata). Kafkas Univ Vet Fak Derg, 19, 343-346.
- Campagna AF, Fracacio R, Rodrigues BK, Eler MN, Fenerich-Verani N, Espindola ELG, 2008. Effects of the copper in the survival, growth and gill morphology of Danio rerio (Cypriniformes, Cyprinidae). Acta Limnol Bras, 20, 253-259.
- Campana O, Sarasquete C, Blasco J, 2003. Effect of lead on ALA-D activity, metallothionein levels, and lipid peroxidation in blood, kidney and liver of the toadfish Halobatrachus didactylus. Ecotoxicol Environ Saf, 55, 116-125.
- Culling AF, Allison TR, Barr TW, 1985. Cellular Pathology Technique. 4th edition, Mid-County Press, London, UK, pp: 1-5.
- Dağ S, Akçay T, Gündüz A, Kantarcı M, Şişman N, 2000. Türkiye'de Tarım İlaçları Endüstrisi ve Geleceği. Türkiye Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi, 17-21 Ocak, TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ankara, Türkiye, pp: 933-957.
- Dang F, Zhong H, Wang W, 2009. Copper uptake kinetics and regulation in a marine fish after waterborne copper acclimation. Aquat Toxicol, 94, 238-244.
- Daoust PY, Wobeser G, Newstead JD, 1984. Acute pathological effects of inorganic mercury and copper in gills of Rainbow Trout. Vet Pathol, 21, 93-101.
- De Boeck G, Vlaeminck A, Balm PH, Lock RA, De Wachter B, Blust R, 2001. Morphological and metabolic changes in common carp, during short-term copper exposure: interactions between copper ions and plasma cortisol elevation. Envir Toxicol, 20, 374-381.
- Dorzab T, Barkoh A, 2005. Toxicity of copper sulfate pentahydrate to rainbow trout oncorhynchus mykiss. In: Management of Pymnesium parvum at Texas State Fish Hatcheries (Eds). Chapter 5, Texas, USA, pp: 43-44.
- Ellis AE, 1980. Antigen-trapping in the Spleen and Kidney of the Plaice, Pleuronectes platessa (L.). J Fish Dis, 3, 413-426.
- Erer H, 2002. Balık Hastalıkları, 2. Baskı. Konya: Selçuk Üniversitesi Basımevi, pp: 161-167.
- Erickson RJ, Benoit DA, Mattson VR, Nelson HP, Leonard AN, 1996. The effect of water chemistry on the toxicity of copper to fathead minnows. Environ Toxic Chem, 5, 181-193.
- FAO, 2007. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Aquaculture Development 2. Health Management for Responsible Movement of Live Aquatic Animals. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome, Italy, pp: 16-24.
- Figueiredo-Fernandes A, Ferreira-Cardoso JV, Garcia-Santos S, Monteiro SM, Carrola J, Matos P, Fontainhas-Fernandes A, 2007. Histopathological changes in liver and gill epithelium of Nile tilapia, Oreochromis niloticus, exposed to waterborne copper. Pesquisa Veterinária Brasileira, 27, 103-109.
- Fuentealba IC, Haywood S, 1988. Cellular mechanisms of to-



- xicity and tolerance in the copper-loaded rat. 1. ultrastructural changes in the liver. *Liver International*, 8, 372-380.
- Grosell MH, Woo CM, 2002. Copper uptake across rainbow trout gills: mechanisms of apical entry. *J Exp Biol*, 205, 1179-1188.
- Heo GJ, 1997. Antibacterial efficacy and safety of copper sulfate pentahydrate to cultured fish. *Korean J Vet Res*, 37, 203-212.
- Herraez MP, Zapata AG, 1986. Structure and Function of the Melano-macrophage Centres of the Goldfish *Carassius auratus*. *Vet Immun Immunopat*, 12, 117 -126.
- Iger Y, Bonga W, 1994. Cellular responses of the skin of carp (*Cyprinus carpio*) exposed to acidified water. *Cell Tissue Res*, 274, 481-492.
- Iger Y, Lock RAC, van der Meij JCA, Wendelaar Bonga SE, 1994. Effect of water-borne cadmium on the skin of the common carp (*Cyprinus carpio*). *Arc Environ Contam Toxicol*, 26, 342-350.
- Kranz H, Gercken J, 1987. Effects of sublethal concentration of potassium dichromate on the occurrence of splenic melanomacrophage centres in juvenile plaice, *Pleuronectes platessa* L. *J Fish Biol*, 31, 75-80.
- Kranz H, Peters N, 1984. Melano-macrophage centres in liver and spleen of ruffe (*Gymnocephalus cernuus*) from the Elbe Estuary. *Helgolander Meeresuntersuchungen*, 37, 415-424.
- Li J, Lock RAC, Quabius SE, Klaren PHM, Swarts HGP, Schuurmans Stekhoven FMAH, Wendelaar Bonga SE, Flik G, 1996. Kinetics of Cu<sup>2+</sup> inhibition of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase. *Toxicol Lett*, 87, 31-38.
- Naigaga I, 2002. Bioaccumulation and histopathology of copper in *Oreochromis mossambicus*. Master of Science. Rhodes University Institute for Water Research, Rhodes, Greece, pp: 55- 63.
- Nekoubin H, Gharedaashi E, Hatefi S, Sudagar M, Shahriari R, Asgharimoghdam A, 2012. Determination of LC50 of copper sulfate and lead(II) nitrate and behavioral responses of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Walailak J Sci & Tech*, 9, 333-340.
- NPIC, National Pesticide Information Center. Technical Fact Sheets Copper Sulphate. <http://npic.orst.edu/factsheets/cuso4tech.html>. Erişim Tarihi: 5 Ocak 2014.
- Oliveira BL, Loureiro Fernandes LF, Bianchini A, Chippari-Gomes AR, Silva BF, Brandao GP, Gomes LC, 2014. Acute copper toxicity in juvenile fat snook *Centropomus parallelus* (Teleostei: Centropomidae) in sea water. *Neotrop Ichthyology*, ISSN 1679-6225, 1-8.
- Olson KR, 1996. Scanning Electron Microscopy of the Fish Gill. In: *Fish Morphology: Horizons of New Research*, Eds: Dutta HM, Mushi JSD, 276, 193-200 Lebanon: Science Publishers, pp: 31-45.
- Öz A, 2006. Bakır Sülfat Pentahidrat Pestisitinin *Lebistes Balıkları* (*Poecilia reticulata*) Üzerindeki Akut Toksik Etkisinin Araştırılması ve Davranış Değişimlerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, pp: 12-25.
- Paris-Palacios S, Biagiatti-Risbourg S, Vernet G, 2000. Biochemical and (ultra)structural hepatic perturbations of *Brachydanio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) exposed to two sublethal concentrations of copper sulfate. *Aqua Toxicol*, 50, 109-124.
- Park K, Heo G, 2009. Acute and subacute toxicity of copper sulfate pentahydrate (CuSO<sub>4</sub> 5•H<sub>2</sub>O) in the guppy (*Poecilia reticulata*). *J Vet Med Sci*, 71, 333-336.
- Pelgrom SMGJ, Lock RAC, Balm PHM, Wendelaar Bonga SE, 1995. Integrated physiological response of tilapia, *Oreochromis mossambicus*, to sublethal copper exposure. *Aqua Toxicol*, 32, 303-320.
- Puig S, Thiele DJ, 2002. Molecular mechanisms of copper uptake and distribution. *Curr Opin Chem Biol*, 6, 171-180.
- Pulsford AL, Ryan KP, Nott JA, 1992. Metals and melano-macrophages in flounder *platichthys flesus* spleen and kidney. *J Mar Biol Assoc UK*, 72, 483-498.
- Roberts RJ, 2012. Fish Pathology. In: Roberts RJ (Eds), Rodger HD, *The Pathophysiology and Systematic Pathology of Teleosts*. Fourth Edition, Wiley-Blackwell: CRP Press, USA, pp: 62-113.
- Sağlam N, Ural M, 2003. Değişik yoğunluktaki bakır sülfat (CuSO<sub>4</sub>) solusyonunda bırakılan gökkuşuğu alabalıklarında (*oncorhynchus mykiss*) makroskopik ve mikroskopik incelemeler. *Fen Müh Bil Der*, 15, 89-97.
- Siemering G, David N, Hayworth J, Franz A, 2005. Aquatic Pesticides Monitoring Program Literature Review, San Francisco Estuary Institute, California, USA, pp: 35-45.
- Straus DL, Tucker CS, 1993. Acute toxicity of copper sulfate and chelated copper to channel catfish *ictalurus punctatus*. *J World Aquacult Soc*, 24, 390-395.
- Van Heerden D, Tiedt LR, Vosloo A, 2004. Gill Damage in and After Short-term Copper Exposure. Elsevier, UK, pp: 195-200.
- Varanka Z, Rojik I, Varanka I, Nemcsok J, Abraham M, 2001. Biochemical and morphological changes in carp (*Cyprinus carpio* L.) liver following exposure to copper sulfate and tannic acid. *Comp Biochem Physiol C: Toxicol Pharmacol*, 128, 467- 478.
- Wani AA, Sikdar-Bar M, Borana K, Khan HA, Andrabi SSM, Pervaiz PA, 2011. Histopathological alterations induced in gill epithelium of african catfish exposed to copper sulphate. *Asian J Exp Biol Sci*, 2, 278-282.
- Wijmenga C, Klomp LWJ, 2004. Molecular regulation of copper excretion in the liver. *Proc Nutr Soc*, 63, 31-39.
- Zarei I, Pourkhabbaz A, Alipour H, Khazaei SH, 2013. Acute toxicity and the effects of copper sulphate (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O) on the behavior of the black fish (*Capoeta Fusca*). *Iran J Toxicol*, 6, 771-778.
- Zimmer AM, Brauner CJ, Wood CM, 2014. Exposure to waterborne Cu inhibits cutaneous Na<sup>+</sup> uptake in post-hatch larval rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aqua Toxicol*, 150, 151-158.

