

***CYPRINUS CARPIO* (L., 1758)'NUN KARACIĞER
ANTİOKSİDAN ENZİM SEVİYELERİ ÜZERİNE
CHLORPYRİFOS'UN ETKİLERİ**

SUNA GÜL GÜNDÜZ

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SU ÜRÜNLERİ
ANABİLİM DALI**

DOKTORA TEZİ

**MERSİN
HAZİRAN – 2012**

***CYPRINUS CARPIO* (L., 1758)'NUN KARACIĞER
ANTİOKSİDAN ENZİM SEVİYELERİ ÜZERİNE
CHLORPYRİFOS'UN ETKİLERİ**

SUNA GÜL GÜNDÜZ

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SU ÜRÜNLERİ
ANABİLİM DALI**

DOKTORA TEZİ

**Danışman
Prof. Dr. Özden BAŞTÜRK**

**MERSİN
HAZİRAN – 2012**

Suna Gül GÜNDÜZ tarafından Prof. Dr. Özden BAŞTÜRK danışmanlığında ve Yrd. Doç. Dr. Ferbal ÖZKAN YILMAZ eş danışmanlığında hazırlanan “*Cyprinus carpio* (L., 1758)’nun Karaciğer Antioksidan Enzim Seviyeleri Üzerine Chlorpyrifos’un etkileri” başlıklı bu çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Prof. Dr. Özden BAŞTÜRK

Prof. Dr. Serap ERGENE

Doç. Dr. Özcan AY

Yrd. Doç. Dr. Ferbal ÖZKAN YILMAZ

Yrd. Doç. Dr. Hikmet Yeter ÇOĞUN

Yukarıdaki Jüri kararı Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 23./07/2012 tarih ve 2012.15./.../433... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. A. Murat GİZİR
Enstitü Müdürü



Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

CYPRINUS CARPIO (LINNAEUS, 1758)'NUN KARACİĞER ANTİOKSİDAN ENZİM SEVİYELERİ ÜZERİNE CHLORPYRİFOS'UN ETKİLERİ

Suna Gül GÜNDÜZ

ÖZ

Bu çalışmada, *Cyprinus carpio*'nun karaciğer dokusu katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GPx) enzim aktiviteleri ile lipid peroksidasyonu (LPO) üzerine chlorpyrifosun (CPF) etkileri araştırılmıştır. *C. carpio* için CPF'nin 96 saatlik LC₅₀ değeri 2.08 mg/L olarak bulunmuştur. Ayrıca, her bir CPF derişimi için davranış değişiklikleri bireysel olarak kaydedilmiştir. Subletal çalışma için CPF'nin LC₅₀ değerinin 1/4 (0.52 mg/L), 1/8 (0.26 mg/L) ve 1/16 (0.13 mg/L)'sı oranında derişimleri seçilmiş olup, balıklar 1, 2, 4 ve 10 gün süreyle bu derişimlere maruz bırakılmışlardır. Deney süresince balıklarda mortalite gözlenmemiştir. CAT, SOD, GPx enzim aktiviteleri ile LPO için malondialdehit (MDA) düzeyi ve protein düzeyleri spektrofotometrik yöntemlerle incelenmiştir. Bulgular, kontrol grupları ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Gözlenen davranış değişiklikleri, kontrole göre genel aktivitede azalma, denge kaybı, düzensiz yüzme ve suyun orta kısmında uzun süre hareketsiz kalma gibi tipik nörotoksik özelliktedirler. CPF'nin süre ve derişim artışına bağlı olarak *C. carpio*'nun karaciğer dokusu CAT, SOD ve GPx aktiviteleri ile MDA düzeylerinde istatistiksel olarak önemli derecede (P<0.05) artışa neden olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Cyprinus carpio*, Chlorpyrifos, Antioksidan Enzim, Lipid Peroksidasyonu.

Danışman: Prof. Dr. Özden BAŞTÜRK, Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Anabilim Dalı

Eş Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ferbal ÖZKAN YILMAZ, Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Anabilim Dalı

THE EFFECTS OF CHLORPYRIFOS ON THE ANTIOXIDANT ENZYMES LEVELS IN THE LIVER OF *CYPRINUS CARPIO* (L, 1758)

Suna Gül GÜNDÜZ

ABSTRACT

In this study, the effects of chlorpyrifos (CPF) on the activities of catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) and lipid peroxidation (LPO) in the liver tissue of *Cyprinus carpio* was investigated. The 96-h LC50 value for the *C. carpio* was estimated as 2.08 mg/L. In addition, behavioral changes at each chlorpyrifos concentration were determined for individuals. One-fourth (0.52 mg/L), one-eighth (0.26 mg/L) and one-sixteenth (0.13 mg/L) of the 96 h LC50 value were selected as sublethal concentrations in the study. The fish were exposed to the sublethal concentrations for 1, 2, 4 and 10 days. No mortality was observed in fish during treatment periods. CAT, SOD, GPx enzyme activities, malondialdehyde (MDA) levels for LPO and protein levels were measured spectrophotometrically. Results were compared with control group. Observed behavioral changes were typical for neurotoxins; loss of activity and balance, erratic swimming and staying motionless at a certain location, generally at mid-water level, for prolonged periods compared to control group. CPF, significantly increased ($P<0.05$) the CAT, SOD with GPx activities and MDA levels of *C. carpio* in a dose- and time-dependent manner.

Key words: *Cyprinus carpio*, Chlorpyrifos, Antioxidant Enzyme, Lipid Peroxidation.

Advisor: Prof. Dr. Özden BAŞTÜRK, Faculty of Fisheries, University of Mersin

Co-advisor: Assoc. Prof. Dr. Ferbal ÖZKAN YILMAZ, Faculty of Fisheries, University of Mersin

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresince her konuda yardım ve desteğini esirgemeyen danışman hocalarım Prof. Dr. Özden BAŞTÜRK ve Yrd. Doç. Dr. Ferbal ÖZKAN YILMAZ'a, önerileri ile beni yönlendiren Prof. Dr. Serap ERGENE, Doç. Dr. Özcan AY ve Yrd. Doç. Dr. Hikmet Yeter ÇOĞUN'a teşekkürlerimi sunarım. Deneysel çalışmalarım sırasında beni destekleyen Yrd. Doç. Dr. Arzu ÖZLÜER HUNT, Arş. Gör. Mustafa BARIŞ ve Arş. Gör. A. Sezai BOZAOĞLU'na, laboratuvar olanaklarından yararlanmamı sağlayan ve biyokimyasal analizlerin yürütülmesinde her türlü yardımlarından dolayı Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Doç. Dr. Serap YALIN'a ve Arş. Gör. Mehmet BERKÖZ'e, araştırmamı destekleyen Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi [BAP-FBE SÜ (SGG) 2008-3 DR]'ne teşekkür ederim. Lisansüstü eğitim sürecinde daima destek ve özverilerini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZ	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	5
3. MATERYAL ve METOT	14
3.1. MATERYAL	14
3.1.1. Kullanılan Kimyasallar Maddeler	14
3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Diğer Gereçler	15
3.2. YÖNTEM.....	16
3.2.1. Chlorpyrifosun 96 saatlik LC ₅₀ Değerinin Belirlenmesi.....	16
3.2.2. Chlorpyrifosun Subletal Derişim Uygulamaları	17
3.2.3. Biyokimyasal Analizler.....	18
3.2.3.1. Katalaz enzim aktivitesi tayini	18
3.2.3.2. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi tayini.....	18
3.2.3.3. Glutasyon peroksidaz aktivitesi ölçümü.....	20
3.2.3.4. Malondialdehid ölçümü	21
3.2.3.5. Protein Ölçümü	23
3.2.4. İstatistiksel analizler.....	24
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	25
4.1. BULGULAR	25
4.1.1. Chlorpyrifosun 96 Saatlik LC ₅₀ Değeri	25
4.1.2. Chlorpyrifosun Subletal Derişim Uygulamaları ve Biyokimyasal Analizler.....	28
4.1.2.1. <i>C. carpio</i> karaciğer dokusu antioksidan enzim aktiviteleri ve malondialdehid düzeyi üzerine chlorpyrifos subletal derişimlerinin etkileri	33
<i>Süreye bağlı değişimler</i>	33
<i>Derişime bağlı değişimler</i>	38
4.1.2.2. <i>C. carpio</i> 'da chlorpyrifos etkisinde antioksidan enzimlerin	

karşılaştırılması	42
<i>Katalaz-Süperoksit dismutaz</i>	42
<i>Katalaz-Glutatyon peroksidaz</i>	45
<i>Glutatyon peroksidaz-Süperoksit dismutaz</i>	47
<i>Katalaz-Malondialdehid</i>	49
<i>Süperoksit dismutaz-Malondialdehid</i>	51
<i>Glutatyon peroksidaz-Malondialdehid</i>	54
4.2. TARTIŞMA	57
4.2.1. <i>C.carpio</i> 'da Chlorpyrifos'un 96 Saatlik LC ₅₀ Değeri	57
4.2.2. Chlorpyrifos'un Subletal Derişimlerinin <i>C. carpio</i> 'nun Antioksidan Enzim Aktiviteleri ve Lipid Peroksidasyonu Üzerine Etkileri	59
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	65
KAYNAKLAR	66
ÖZGEÇMİŞ ve ESERLER LİSTESİ	75

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1. Glutasyon peroksidaz yöntemi.....	21
Çizelge 3.2. Malondialdehid yöntemi.....	22
Çizelge 3.3. Protein ölçümü.....	24
Çizelge 4.1. <i>C. carpio</i> için hesaplanan 96 saat'lik LC ₅₀ ve diğer letal derişim değerleri.....	25
Çizelge 4.2. CPF'nin subletal derişimlerine maruz bırakılan <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu CAT enzim aktivitelerinin (U/mg protein) temas süresine bağlı değişimleri.....	31
Çizelge 4.3. CPF'nin subletal derişimlerine maruz bırakılan <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu SOD enzim aktivitelerinin (U/mg protein) temas süresine bağlı değişimleri.....	31
Çizelge 4.4. CPF'nin subletal derişimlerine maruz bırakılan <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu GPx enzim aktivitelerinin (U/mg protein) temas süresine bağlı değişimleri.....	32
Çizelge 4.5. CPF'nin subletal derişimlerine maruz bırakılan <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu MDA düzeylerinin (nmol/mg protein) temas süresine bağlı değişimleri.....	32

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 4.1.	96 saatlik sürede CPF derişimlerine bağlı olarak <i>C. carpio</i> 'da belirlenen ölüm oranları (%).....	26
Şekil 4.2.	CPF'nin akut toksik etkisindeki <i>C. carpio</i> 'da gözlenen hareketler. (a: Sıçrama hareketi, b: Bir köşeye toplanma).....	27
Şekil 4.3.	CPF'nin subletal derişimleri etkisinde <i>C. carpio</i> 'da gözlenen hareket ve morfolojik değişimler (a: bir köşeye toplanma, b: kuyruk omur eğriliği).....	29
Şekil 4.4.	CPF'nin subletal derişimlerinin etkisine bırakılan <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu CAT enzim aktivitesinin süreye göre değişimi.....	34
Şekil 4.5.	CPF'nin subletal derişimlerinin etkisine bırakılan <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu SOD enzim aktivitesinin süreye göre değişimi.....	35
Şekil 4.6.	CPF'nin subletal derişimlerinin etkisine bırakılan <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu GPx enzim aktivitesinin süreye göre değişimi.....	36
Şekil 4.7.	CPF'nin subletal derişimlerinin etkisine bırakılan <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu MDA düzeyinin süreye göre değişimi.....	38
Şekil 4.8.	CPF etkisinde <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu CAT aktivesinde derişime bağlı değişimler.....	39
Şekil 4.9.	CPF etkisinde <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu SOD aktivesinde derişime bağlı değişimler.....	40
Şekil 4.10.	CPF etkisinde <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu GPx aktivesinde derişime bağlı değişimler.....	41
Şekil 4.11.	CPF etkisinde <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu MDA düzeyinde derişime bağlı değişimler.....	42
Şekil 4.12.	0.13 mg/L CPF derişimi etkisinde <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu CAT ve SOD aktivitelerinin süreye bağlı olarak % değişimleri.....	43
Şekil 4.13.	0.26 mg/L CPF derişimi etkisinde <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu CAT ve SOD aktivitesinin süreye bağlı olarak % değişimleri.....	44
Şekil 4.14.	0.52 mg/L CPF derişimi etkisinde <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu CAT ve SOD aktivitesinin süreye bağlı olarak % değişimleri.....	44
Şekil 4.15.	0.13 mg/L CPF derişimi etkisinde <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu CAT ve GPx aktivitesinin süreye bağlı olarak % değişimleri.....	46
Şekil 4.16.	0.25 mg/L CPF derişimi etkisinde <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu CAT ve GPx aktivitesinin süreye bağlı olarak % değişimleri.....	46
Şekil 4.17.	0.52 mg/L CPF derişimi etkisinde <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu CAT ve GPx aktivitesinin süreye bağlı olarak % değişimleri.....	47
Şekil 4.18.	0.13 mg/L CPF derişimi etkisinde <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu GPx ve SOD aktivitesinin süreye bağlı olarak % değişimleri.....	48
Şekil 4.19.	0.26 mg/L CPF derişimi etkisinde <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu GPx ve SOD aktivitesinin süreye bağlı olarak % değişimleri.....	48
Şekil 4.20.	0.52 mg/L CPF derişimi etkisinde <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu	

GPx ve SOD aktivitesinin süreye bağlı olarak % değişimleri.....	49
Şekil 4.21. 0.13 mg/L CPF derişimi etkisinde <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu CAT aktivitesi ve MDA düzeyinin süreye bağlı olarak % değişimleri.....	50
Şekil 4.22. 0.26 mg/L CPF derişimi etkisinde <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu CAT aktivitesi ve MDA düzeyinin süreye bağlı olarak % değişimleri.....	50
Şekil 4.23. 0.52 mg/L CPF derişimi etkisinde <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu CAT aktivitesi ve MDA düzeyinin süreye bağlı olarak % değişimleri.....	51
Şekil 4.24. 0.13 mg/L CPF derişimi etkisinde <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu SOD aktivitesi ve MDA düzeyinin süreye bağlı olarak % değişimleri.....	52
Şekil 4.25. 0.26 mg/L CPF derişimi etkisinde <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu SOD aktivitesi ve MDA düzeyinin süreye bağlı olarak % değişimleri.....	53
Şekil 4.26. 0.52 mg/L CPF derişimi etkisinde <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu SOD aktivitesi ve MDA düzeyinin süreye bağlı olarak % değişimleri.....	53
Şekil 4.27. 0.13 mg/L CPF derişimi etkisinde <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu GPx aktivitesi ve MDA düzeyinin süreye bağlı olarak % değişimleri.....	55
Şekil 4.28. 0.26 mg/L CPF derişimi etkisinde <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu GPx aktivitesi ve MDA düzeyinin süreye bağlı olarak % değişimleri.....	55
Şekil 4.29. 0.52 mg/l CPF derişimi etkisinde <i>C. carpio</i> 'nun karaciğer dokusu GPx aktivitesi ve MDA düzeyinin süreye bağlı olarak % değişimleri.....	56

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AChE	: Asetilkolin esteraz
CAT	: Katalaz
CPF	: Chlorpyrifos
G ₆ PDH	: Glukoz- 6-fosfat dehidrogenaz
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GSH	: Redükte glutasyon
LPO	: Lipid peroksidasyonu
MDA	: Malondialdehid
NADP	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat hidrojen
O ₂ ⁻	: Süperoksit Anyon Radikali
OH ⁻	: Hidroksil Radikali
OP	: Organofosforlu Pestisit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksid dismutaz
TBARS	: Tiobarbitürik asit reaktif substansları
nmol	: Nanomol

1. GİRİŞ

Pestisitler genellikle daha fazla ürün elde etmek amacıyla tarım ürünlerine zarar veren böceklerin ve hastalık etkeni olan çeşitli vektörlerin kontrolünde kullanılan kimyasal bileşiklerdir [Abdollahi vd., 2004]. Çoğu pestisitler kararlı yapısından dolayı çevresel bozulmaya dirençlidir ve bu nedenle etkileri oldukça yüksektir. Bu özellik, onların doğal ekosistemlerde uzun süre etkinliğini desteklemektedir. Tarımsal mücadelede daha fazla ve daha kaliteli ürün almak için kullanılan birçok pestisit, bilinçsiz veya doğru kullanılmadığı takdirde yeraltı suları, akarsular ve denizlere ulaşarak kirliliğe neden olabilmektedir. Bu kirliliklerden dolayı, denizde ve tatlı sularda yaşayan balıklar, memeliler, algler, kabuklu su canlıları ve planktonik su canlıları ölmekte ya da yaşam alanları kısıtlanmaktadır [Verpe vd., 2005; Aniladevi vd. 2008; Stalin vd., 2008]. Sucul ortamlara karışan pestisitler ve ağır metaller gibi çeşitli toksik kimyasalların, canlı sistemlerinde depolanarak, yapısal ve fonksiyonel birçok değişikliğe neden oldukları bilinmektedir [Malla vd., 2009].

Günümüzde kullanılan pestisitlerin büyük bir kısmı organofosforlu, karbamatlı ve sentetik piretroid türü bileşiklerdir. Organofosforlu pestisitler, 1930'lu yıllarda Almanya'da kimyasal savaş ajanları olarak üretilmiştir. Çevrede hızlı bozulma özellikleri nedeniyle dünya çapında en yaygın olarak kullanılan insektisit grubunu oluşturmuşlardır. Bu özellik önemli bir avantaj sağlamasına karşın, genellikle hedef organizma seçiciliği çok düşüktür ve hedef olmayan birçok omurgalı ve omurgasız türüne karşı yüksek akut toksisiteye sahiptirler. Bu nedenle, birçok karasal ve sucul organizma çevredeki bu bileşiklerin etkisi ile zehirlenme riski altındadır [Fulton ve Key, 2001]. Çoğu organofosforlu pestisitlerin doğada kararsız olduğu kabul edilse de, bazı kaynaklar organik fosforlu kalıntılarının drenaj kanallarında ve toprakta değişmeden kaldıklarını belirtmektedirler. Bu organik kirlleticiler yağda çözünebilirler ve besin, sediment, su yoluyla sucul organizmaların dokularına alınabilirler [Aniladevi vd., 2008].

Organofosforlu pestisitler geniş bir yelpazede zararlıları kontrol etmek için en yaygın olarak kullanılan sentetik kimyasallardır. Dünya çapında yaygın olarak

kullanılan önemli organofosforlu pestisitler arasında olan chlorpyrifos (CPF) [O,O-diethyl O-3,5,6-trichloropyridin-2-yl phosphorothioate], tarımda çeşitli zararlı böceklerin kontrolü için kullanılan ve son yıllarda yerleşim bölgelerinde de kullanılan geniş spektrumlu organofosforlu bir insektisittir [Giron-Perez vd., 2006]. Suda çözünürlüğü düşük olan CPF, organizmada asetilkolinesteraz aktivitesini engellemek yoluyla doğrudan sinir sistemini etkilemektedir. Diğer organofosforuların aksine, CPF uzun süreli kalıcı bir etkiye sahip olmakta ve yağ dokusunda birikebilmektedir [Kammerbauer ve Moncada, 1998; Chandrasekara ve Pathiratne, 2007; Daoud vd., 2008].

Pestisitler, reaktif oksijen türleri (ROS) olarak bilinen ve oksidatif stres oluşturan bileşiklerin artmasına neden olabilirler. Pestisitlerin oksidatif stres oluşturmaları, son yıllarda toksikoloji araştırmalarını olası toksisite mekanizmalarına yoğunlaştırmıştır [Valavanidis vd., 2006].

Serbest radikaller, paylaşılmamış bir ya da daha fazla elektron içeren moleküllerdir ve radikal olmayan bir türün yalnızca bir elektron kaybetmesi ya da kazanmasıyla oluşmaktadır [Zwart vd., 1999]. Zayıf bir elektriksel alana sahip olmaları paylaşılmamış elektronlarından kaynaklanır. Bu özellikleri ile yüksek derecede reaktiftirler. ROS ya da oksidant terimi; sadece süperoksit (O_2^-) ve hidroksil (HO) gibi oksijen radikallerini değil, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hipokloröz asit (HOCl) gibi bazı radikal olmayan oksijen türevlerini tanımlamak amacıyla kullanılmaktadır. Sağlıklı aerobik organizmalarda üretilen ROS ve reaktif nitrojen türleri (RNS) gibi oksidantlar, antioksidan savunma sistemi tarafından dengede tutulur. Bu kontrol mekanizmalarındaki oluşan her türlü dengesizlik oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır [Halliwell ve Gutteridge, 1999; Reed, 2001].

Organofosforlu insektisidlerin birçoğu hücrede lipid peroksidasyonuna (LPO) neden olmaktadır [Altuntaş vd., 2003a]. Organik fosforlu bileşikler, organizmalardaki biyotransformasyonları sırasında O_2^- gruplarını açığa çıkarmaktadırlar. Açığa çıkan bu gruplar, hücre zarı fosfolipidlerinde LPO'ya ve sonuçta hücre hasarına neden olmaktadır [Mercan, 2004]. Lipid peroksidasyonunun belirlenmesinde kullanılan en basit ve en yaygın yöntem arakidonik asit

endoperoksitlerinin parçalanma ürünü olan malondialdehid (MDA) miktarının belirlenmesidir [Spiteller, 2001].

Antioksidan savunma sistemi, reaktif oksijen türlerine karşı katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimleri içermektedir. Antioksidan savunma sistemin en önemli özelliği, sistemin tüm bileşenlerinin ROS'a karşı bir sinerji oluşturacak şekilde görev almasıdır. Bu enzimler hücre homeostazisinin düzenlenmesinde yaşamsal bir öneme sahiptirler ve indüksiyonları kirleticilere karşı verilen tepkinin bir sonucudur. [Doyotte vd., 1997; Chaudiere ve Ferrai- Iliou, 1999; Oruç vd., 2004].

Reaktif oksijen türlerinin üretimini artıran pestisitlere karşı antioksidan enzimlerin yanıtları ile ilgili çeşitli çalışmalar geniş farklılıklar göstermektedir. Çevresel kirleticilerin toksik etkilerinin araştırılmasında, çevresel risk yanıtlarına erken uyarı almak ve organizmaların sağlık durumunu değerlendirmek için biyomarkırlar belirlenmiştir. Antioksidan enzim aktiviteleri, glutatyon redoks durumları ve LPO ürün seviyeleri toksikolojik değerlendirmelerde en sık kullanılan biyomarkırlardır [Oruç vd., 2004].

CPF'nin çeşitli hayvanlarda enzimatik antioksidan savunma sistemini etkilediği ve oksidatif stres oluşumuna neden olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmektedir [Mehta vd., 2009, Radhey vd., 2007]. Çeşitli balık türleriyle yapılan çalışmalarda, CPF'nin beyin asetilkolinesteraz inhibisyonu ve LPO'da artışa neden olduğu bildirilmiştir [De Mel ve Pathiratne, 2005; Jason vd., 2005; Kavitha ve Venkateswara Rao, 2008; Sharbidre vd., 2011].

Balıklar ile yapılan çalışmalar pestisitlerin indüklediği oksidatif hasardan hücresel sistemleri korumak üzere etkin bir antioksidan sisteme sahip olduklarını göstermiştir [Valavanidis vd., 2006]. ROS'un hücresel bileşenlere ne şekilde hasar verdiğini, hücrelerin bu hasara yanıtlarını, hasarı düzelten tamir mekanizmalarını ve oksidatif stresin ne şekilde hastalıklara yol açtığını anlamak üzere model organizmalar olarak kullanılabilirler [Oruç vd, 2004].

Detoksifikasyon sürecinde önemli rol oynayan karaciğer, ksenobiyotikler ve onların metabolik yan ürünleriyle maksimum maruz kalma durumuyla karşı karşıya olmasının yanı sıra, birikim, biyotransformasyon ve onların atılımından da sorumlu en önemli organdır. Çoklu doymamış yağ asitleri ve oksidatif metabolik aktivite oranı gibi okside olmaya hazır maddeler ve antioksidan enzimlerin seviyelerinin düşük olması nedeniyle, özellikle merkezi sinir sistemi ROS'un zararlı etkisine karşı oldukça duyarlıdır [Mehta vd., 2009].

Cyprinus carpio, Cyprinidae familyasından bir tatlı su balığıdır ve çevresel şartlara karşı direnci yüksektir. Yumuşak dip sedimentlerinde yaşayan omnivor bir tür olup, besininin büyük kısmını sedimentten karşılar. Dünyanın birçok ülkesinde kültüre alınmıştır [<http://www.fishbase.org>]. *C. carpio*, günümüzde Asya'nın tamamı, Avrupa'nın büyük bir kısmı ile Latin Amerika'nın bazı bölgelerinde kültüre alınmıştır ve dünya üzerinde geniş bir yayılım alanına sahip olması nedeniyle biyodeneylede sıklıkla kullanılmaktadır [Aydın ve Köprücü, 2005].

Bu çalışmada, Mersin Bölgesi tarım alanlarında yaygın olarak kullanılan organofosforlu pestisitlerden CPF'nin, *C. carpio*'nun karaciğer dokusunda CAT, SOD ve GPx enzim aktiviteleri ve MDA düzeyleri üzerine etkilerinin ortaya konması amaçlanmıştır. CPF'nin sucul organizmalarda akut toksisitesi ile ilgili az veri bulunmakla birlikte, dünya üzerinde geniş dağılım gösteren ve ekonomik öneme sahip bir tür olan *C. carpio* üzerine etkileri hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu çalışmada ayrıca CPF'nin *C. carpio* üzerine akut toksisitesini gösteren 96 saatlik LC₅₀ değerinin belirlenmesi ve bu pestiside karşı balıkların davranış değişimlerinin incelenmesi hedeflenmiştir. Pestisitlerin etkilerinin ortaya konulması toksikolojik çalışmalar için önem taşımaktadır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

Kimyasalların toksisitesi, maruz bırakılan canlı türüne göre değişiklik göstermektedir. Pestisitlerin balıklara etkileri üzerine yapılan araştırmalar, onların insan sağlığı üzerine olumsuz etkilerini değerlendirmede tanısasal bir öneme sahiptir. Ayrıca balık çalışmalarının sudaki kirleticilere maruz kalmanın biyogöstergesi olarak yararlı olduğu kanıtlanmıştır [Oruç vd, 2004].

Serbest radikaller ve bunları etkisizleştirmek için kullanılan veya üretilen antioksidanlar hakkında mevcut bilgiler arttıkça bunlara olan bilimsel ilgi de her geçen gün artmaktadır. Bu bağlamda, hemen her sahada yapılan çalışmaların antioksidan özellikler ile birlikte değerlendirme çalışmaları da ön plana çıkmaktadır.

İn vivo ve in vitro deneysel çalışmalar, akut, subakut, subkronik ve kronik organofosforlu pestisit uygulamalarının sonucunda ortaya çıkan hepatotoksisite, nörotoksisite, genotoksisite, embriyotoksisite, immünotoksisite gibi etkenlerin patogeneğinde, reaktif oksijen türleri (ROS)'nin artışına bağlı olarak, oksidatif doku hasarına yol açtığını ortaya koymuştur. Bu çalışmalarda, karaciğer, beyin ve tiroit gibi çeşitli doku örneklerinde, serum ve eritrositlerde LPO'nun bir göstergesi olan tiobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) seviyelerinde artış ve enzimatik antioksidan savunma elemanlarından olan CAT, SOD, GPx, glukoz- 6-fosfat dehidrogenaz (G₆PDH) ve glutatyon redüktaz (GR) aktivitelerindeki değişikliklerin gösterilmesiyle organofosfatlıların toksisitesinde oksidatif hasarın rol oynayabileceği belirtilmiştir [Datta vd., 1992; Dwivedi vd., 1998; Banerjee vd., 1999; Kale vd, 1999; Öncü vd, 2002; Altuntas vd., 2003b].

CPF, böceklerin sinir sistemlerini bozarak ölüme yol açan bir organofosforlu insektisittir ve bitkilerle beslenen böceklerin geniş bir bölümüne etki etmektedir. *Channa punctatus*'ta CPF'nin subletal derişimlerinin 24, 48, 72 ve 96 saat süreyle etkisinde eritrosit sedimentasyon oranında artışa neden olduğunu bildirilmiştir [Malla vd., 2009]. Sularda düşük çözünürlüğe sahip olan CPF'nin, yapılan çalışmalarda bazı makrofitler tarafından absorblanarak sucul çevreden uzaklaştırıldığı belirtilmektedir [Kidd ve James, 1991; Karen vd., 1998].

CPF'nin sıçanların beyin, böbrek, dalak ve karaciğer dokuları üzerindeki oksidatif stres oluşumunu belirlemek amacıyla, Asetilkolin esterase (AChE), SOD, CAT ve G₆PDH enzim aktiviteleri, yemlerle A, C, E vitamin ilavesinin koruyuculuk özelliği ile birlikte araştırılmıştır. Çalışma sonucunda CPF'nin sıçanlarda oksidatif strese neden olduğu, antioksidan vitaminlerin de oksidatif strese karşı koruyucu etkisinin bulunduğunu belirtilmiştir [Radhey vd., 2007]. Benzer bir çalışmada, CPF'nin sıçanların retinasında hücre ölümünün, oksidatif stres ve DNA hasarlarına etkisi, E ve C vitaminleri ile birlikte incelenmiştir. CPF etkisinde hücre ölümü, LPO ve DNA hasarlarının arttığı, SOD, CAT ve GPx enzim aktivitelerinde azalma görüldüğü saptanmıştır. Ayrıca enjeksiyonla uygulanan E ve C vitamin kombinasyonlarının CPF'nin olumsuz etkilerini azalttığı bildirilmiştir [Yu vd., 2008].

Demir vd. [2011], sıçan eritrositlerinde CPF tarafından oluşturulan oksidatif stresi, catechin ve quercetin'in koruyucu etkisiyle incelemiştir. Dört haftalık deney süresi sonunda CPF'nin subletal derişim uygulanan sıçan eritrositlerinde, kontrol grubuna göre MDA düzeyinde artış SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde azalma belirlemiştir. Catechin ve quercetin ile birlikte CPF uygulanan gruplarda, sadece CPF uygulanan gruba göre MDA düzeyinde azalma, SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde ise artış gözleendiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar yaptıkları çalışma sonucunda, catechin ve quercetin ilavesinin CPF'nin oluşturduğu oksidatif stresi azaltıcı etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Balıklar üzerine yapılan toksikoloji çalışmalarında balığın türü, büyüklüğü, incelenen doku ve kullanılan toksik kimyasalların çeşidine göre farklı sonuçlar elde edilebilmektedir. 2,4-dichlorophenoxyacetic acid ve azinphosmethyl ile bu pestisitlerin karışımına 96 saat süreyle maruz bırakılan *Oreochromis niloticus* ve *C. carpio* 'da solungaç, böbrek ve beyin dokularında antioksidan enzim aktiviteleri ve LPO seviyeleri üzerine etkileri çalışılmıştır. Bu çalışma sonucunda balık türüne ve uygulama grubuna göre enzim aktivitelerinde farklı yanıtlar olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), azinphosmethyl'in oksidatif

strese neden olduğu, *C. carpio*'nun pestisitler için kirlilik çalışmalarında *O. niloticus*'tan daha duyarlı olarak kullanılabileceğini önermişlerdir [Oruç vd. 2004].

15 ve 30 günlük peryotlarla diazinon uygulamasına maruz bırakılan aynalı sazamn (*C. Carpio*) çeşitli dokularındaki antioksidan enzim aktivitelerinin farklı yanıtlar verdiği rapor edilmiştir [Oruç ve Usta 2007]. Durmaz vd. [2006], 1, 7, 15 ve 30 günlük peryotlarla diazinon etkisine maruz bırakılan *O. niloticus*'un çeşitli dokularında antioksidan enzim ve LPO üzerine etkilerini incelemişler, antioksidan enzim aktivitelerinin dokulara göre değişiklik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Kavitha ve Venkateswara Rao [2008], CPF'nin 96 saatlik LC₅₀ derişiminin *Gambusia affinis*'te kas dokusu antioksidan enzimleri ile beyin dokusu AChE aktivitesi üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda 96 saatlik CPF maruziyetinin asetilkolin estera (AChE) inhibisyonu ve LPO'na yol açtığı, 16 günlük yenileme sürecinde ise LPO' nun oldukça azaldığı, CAT, SOD ve glutatyon redüktaz aktivitelerinin kontrol grubuna yakın gözleendiği bildirilmiştir. Araştırmacılar, antioksidan enzimlerin sucul canlılarda pestisit toksisitesinde biyoindikatör olarak kullanılabileceğini önermektedirler.

O. niloticus'ta CPF'nin bazı hematolojik parametreler ile fagositik aktivite üzerinde akut ve subletal etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, CPF'nin *O. niloticus* için 96 saatlik LC50 değeri 1.023 mg/L belirlenmiştir. Ayrıca CPF'nin subletal derişimlerinin *O. niloticus*'un fagositik aktivitesini önemli derecede artırdığı, hematolojik parametreler üzerinde daha az etkisinin olduğu bildirilmiştir [Giron-Perez vd. 2006].

Pirinç zararlılarına karşı kullanılan pestisitlerden CPF, dimethoate, carbaryl and carbosulfan'ın subletal derişimlerinin, *C. carpio* yavrularında 14 gün süreyle beyin AChE enzimine etkilerinin araştırıldığı çalışmada, CPF'nin diğerlerine göre daha toksik olduğu, dimethoate'nin ise daha az toksik olduğu belirlenmiştir. CPF'nin AChE enzimini geri dönüşümsüz bir şekilde inhibe etmesi nedeniyle, pirinç tarlalarında *C.carpio* yetiştiriciliğinde carbaryl türü pestisit kullanılmasının daha az

zarar vereceği önerilmiştir. [De Mel ve Pathiratne, 2005]. Başka bir çalışmada ise, CPF subletal derişimlerinin 96 saat süreyle *Oncorhynchus kisutch*'un beyin ve kas dokusunda AChE inhibisyonu ile davranış değişikliği üzerine etkileri incelenmiştir. Beyin AChE inhibisyonu ile yüzme hızı ve besin alımındaki azalmaların bağlantılı olduğu bildirilmiştir [Jason vd., 2005]. CPF, diazinon, ve carbofuranın subletal derişimlerinin, *C. carpio*'nun beyin dokusu AChE aktivitesi üzerine etkilerinin araştırıldığı bir diğer çalışmada [Dembele vd. 2000], doz artışına paralel olarak AChE aktivitesinde önemli oranda azalmaların olduğu belirlenmiştir.

Farklı büyüklüklerdeki *O. niloticus*'ta CPF ve carbosülfanın 2, 6, 10 ve 14 gün sürelerle AChE üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalarda [Chandrasekara ve Pathiratne, 2007], ilk 48 saatlik sürede 3-4 cm büyüklüğündeki yavrulardaki AChE aktivitesinin 10-12 cm boyundaki balıklara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. 14 gün süresince pestisit uygulama gruplarında AChE aktivitesinde inhibisyon olduğu, bu durumun balık büyüklüğüne göre değişim gösterdiği bulunmuştur.

21 gün süreyle CPF'nin etkisinde kalan *Oreochromis mossambicus*'un solungaç ve karaciğer dokularında histopatolojik etkilerin oluştuğu belirtilmiştir. CPF uygulama gruplarında solungaç ve karaciğerde kontrole göre yapısal değişiklikler gözlemlenmiştir [Aniladevi ve Kujamma, 2008].

Catla catla, *Labeo rohita* ve *Cirrhinus mrigala*'un karaciğer ve beyin dokusunda CPF'nin birikim düzeylerinin araştırıldığı bir başka çalışmada, 96 saatlik LC₅₀ değerinin 1/5' i oranındaki CPF derişimine 8 gün süreyle maruz bırakılan balıkların beyin dokusundaki birikim düzeyinin karaciğer dokusuna göre daha fazla olduğu bulunmuştur [Tilak vd., 2004].

Yapılan diğer çalışmalarda, tarım arazilerinin yakınında bulunan nehir suyu örneklerinde ve balık dokularında önemli düzeyde CPF kalıntlarına rastlanmıştır. Ayrıca pazara sunulan balık ürünlerinde yüksek oranda CPF kalıntlarına rastlandığı bildirilmiştir [Kammerbauer ve Moncada, 1998; Sun vd., 2006]. Yetiştirilen ve avlanan balıklarda pestisit kalıntılarının araştırıldığı başka bir çalışmada, yetiştirilen

balıklarda, avlananlara oranla %23 daha fazla CPF kalıntısı belirlenmiş, CPF kalıntısının işletmelere balık yemleri yoluyla ulaştığı, yapılan yem ve su analizleri sonucunda belirlenmiştir [Sun ve Chen, 2008].

Cypermethrin etkisinde bırakılan *C. carpio* ve *O. niloticus*'un böbrek dokusunda GPx aktivitesi ve LPO'da artış meydana geldiği bildirilmiştir. *O. niloticus* karaciğerinde benzer değişimler meydana gelmekle beraber, *C. carpio* karaciğerinde GPx aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir [Üner vd., 2001].

Daoud vd. [2008], *Channa punctatus*'ta CPF'nin subletal derişimlerinin mikronükleus frekansı ve DNA hasarları üzerine etkisini inceledikleri bir çalışmada, CPF derişimi ve süreye bağlı olarak mikronükleus oluşumu ve DNA hasarlarında artış meydana geldiğini göstermişlerdir.

Bir piretroid insektisit türü olan deltamethrine 48 saat süre ile maruz bırakılan *C. punctatus*'da karaciğer, böbrek ve solungaç dokusu antioksidan parametreler, LPO ve protein düzeylerinin incelendiği başka bir çalışmada, en yüksek solungaçta olmak üzere tüm dokularda LPO'nun ve redükte glutatyon (GSH) miktarının önemli derecede arttığı saptanmıştır. CAT aktivitesinin tüm dokularda azaldığı, glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesinin ise karaciğer ve böbrekte artarken solungaçlarda önemli derecede azaldığı bulunmuştur [Sayeed vd., 2003].

Diazinonun subletal derişimlerinin *Poecilia reticulata*'nın kas ve solungaç dokularındaki AChE ve LPO seviyeleri üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, LPO'nun son ürünü olan MDA seviyesinde artış ve AChE aktivitesinde ise inhibisyona neden olduğu saptanmıştır [Sharbidre vd., 2011].

Oncorhynchus mykiss'te metil parathion ve diazinonun 24, 48 ve 72 saat süreyle solungaç, karaciğer ve kas dokularında antioksidan enzim aktivitelerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada [Işık ve Çelik, 2008], LPO seviyesinde artışlar ve antioksidan enzim aktivitelerinde değişimler gözlenmiştir.

48 saat süre ile deltamethrine etkisinde bırakılan *C. punctatus*'ta LPO ve antioksidan enzim aktivitelerinin incelendiği bir çalışmada, CAT aktivitesinin inhibe olduğu, LPO'nun ise artış gösterdiği belirtilmiştir [Sayeed vd., 2003]. Parves ve Raisuddin [2006], deltametrine maruz bırakılan tatlısu balıklarından *C. punctatus*'un enzimatik olmayan antioksidan yapılarının etkilendiği ve glutatyon miktarında azalmalar olduğu sonucuna varmışlardır.

2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), azinphosmethyl ve bu pestisidlerin kombinasyonlarının etkisindeki *O. niloticus* ve *C. carpio*'da solungaç, böbrek ve beyin dokularında antioksidan sistemlerin incelendiği bir çalışmada; *O. niloticus*'da beyin dokusunda CAT aktivitesinin değişmediği, *C. carpio*'da bu pestisidlerin tek başına ve kombine uygulamalarında, böbrekte CAT aktivitesinin yükseldiği ve her iki türün solungaç dokularında SOD aktivitesinin önemli derecede arttığı bildirilmiştir [Oruç vd., 2004].

Thomas vd. [2009], organofosforlu insektisitlerden trichlorfonun Nil Tilapyası üzerine oksidatif stres etkisini araştırdıkları bir çalışmada, karaciğer, kalp ve solungaçlarda antioksidan enzim aktiviteleri ile LPO düzeylerini incelemişlerdir. 96 saat süren çalışma sonucunda antioksidan enzim aktivitelerinin dokulara göre değişimler gösterdiğini, LPO düzeyinin önemli düzeyde arttığını belirtmişlerdir.

Jenynsia multidentata üzerinde endosülfanın etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada ise, beyin, karaciğer, solungaç, kas ve barsak dokularında antioksidan enzim aktiviteleri ile LPO seviyelerindeki değişimler incelenmiş, sonuçta GPx aktivitesinin beyin ve solungaçlarda artarken, karaciğer, kas ve barsak dokularında inhibe olduğu, LPO düzeyinin bütün dokularda artış gösterdiği bildirilmiştir [Ballesteros vd., 2009].

C. carpio'da fenthionun oksidatif stres etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, beyin SOD ve CAT aktivitelerinde kontrole göre değişim olmadığı belirtilmiştir [Üner vd., 2009]. *C. carpio*'da hexachlorobenzene'in etkilerinin araştırıldığı bir

çalışmada [Song vd., 2006], karaciğer SOD aktivitesinde kontrole göre önemli bir değişim görülmediği belirtilmiştir.

Diazinonun subletal derişimlerinin etkisine maruz bırakılan *O. niloticus*'da solungaç, böbrek, sindirim kanalında (mide ve bağırsak) ve kas dokularında antioksidan enzim aktiviteleri ile MDA ve protein düzeyleri incelenmiştir. Tüm dokularda, SOD aktivitesinin arttığı, SOD ve oksidatif stres açısından diazinona karşı en duyarlı dokunun böbrek olduğu saptanmıştır. CAT aktivitesi sindirim kanalında artarken diğer dokularda değişmemiştir. Solungaç dokusunda MDA miktarı değişmezken kasta 15. ve 30. günlerde arttığı, sindirim kanalında 7. gün dışındaki tüm sürelerde MDA düzeyinin azaldığı ve böbrekte derişime bağlı olarak MDA miktarının önemli derecede arttığı saptanmıştır. Kas, böbrek ve sindirim kanalında protein miktarının azaldığı ancak; 15. günde sindirim kanalı ile solungaçlarda arttığı bildirilmiştir [Durmaz vd., 2006].

Ahmad vd. [2000], Ria de Aveiro lagün bölgesinden alınan *Dicentrarchus labrax* örneklerinde LPO, bazı antioksidan enzimler ve DNA hasarlarını incelemişler, kirleticilere en çok maruz kalan istasyondan yakaladıkları *D. labrax*'ın solungaç örneklerinde lipid peroksidasyonunda artış ve DNA bütünlük kaybını belirlemişlerdir.

Çevre ve laboratuvar şartlarında tebuconazola maruz kalan *C. carpio*'da, karaciğer, beyin ve kas dokularında MDA, protein karbonil, CAT, GST ve AChE aktivitelerinin incelendiği bir arazi çalışmasında, tüm dokularda MDA seviyesinde artışla birlikte karaciğer protein karbonil ve beyin AChE aktivitelerinde de artış belirlenmiştir. Laboratuvar çalışmasında ise, tüm derişim gruplarında MDA seviyesinde artış gözlenirken, sadece en yüksek derişim uygulama grubunda protein karbonil düzeyinde artış belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda tebuconazolun hem arazi hem de laboratuvar şartlarında balık sağlığını direkt etkilediği Toni vd. [2011] tarafından bildirilmiştir.

O. niloticus'ta chlorpyrifos ethylin gonadal antioksidan enzim ve AChE aktiviteleri üzerine etkisini 15 ve 30 gün süreyle incelenmiştir. Ayrıca serum estradiol, testosteron ve kortizol seviyelerinin de araştırıldığı çalışma sonucunda, gonadlarda AChE aktivitesinde azalma tespit edilmiştir. Tüm çalışma gruplarında CAT, GPx ve MDA yönünden kontrol grubuna göre önemli bir fark bulunmadığı, SOD ve GST aktivitelerinde süreye ve derişime bağılı olarak artış gözleendiği bildirilmiştir. Serum estradiol, testosteron ve kortizol seviyeleri kontrol grubundan daha düşük seviyede bulunmuştur. Aynı çalışmada 30 gün sonunda balıklar pestisit uygulanmayan ortamlara alınarak enzim aktiviteleri 15 gün süreyle incelenmiştir. AChE aktivitesi ve kortizol seviyelerinin bu süreçte de azalmaya devam ettiği, chlorpyrifos ethylin oluşturduğu stres etkisinin sürdüğü bildirilmiştir [Oruç, 2010].

Ansari vd. [2011], *C. punctatus* eritrositlerinde cypermethrinin subletal derişimlerinin oksidatif stres ve mikronükleus ile böbrek hücrelerinde kromozom aberasyonu üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarından, MDA ve GSH seviyelerinde artışlar gözleendiği, SOD aktivitesinde ise azalmalar olduğunu belirtmişlerdir. Cypermetrin derişimine ve süreye bağılı olarak mikronükleus ve kromozom aberasyonlarının arttığı bildirilmiştir. Cypermetrinin oluşturduğu genotoksik etkilere oksidatif stresin eşlik ettiği belirtilmiştir.

Yonar ve Sakin [2011], *Cyprinus carpio*'da deltametrin maruziyetine karşı likopenin olumlu etkisini araştırmışlardır. 14 gün süren çalışma sonucunda kan, karaciğer, böbrek ve solungaç dokularında MDA, GPx, CAT ve SOD aktiviteleri incelenmiştir. Deltametrin uygulama grubunda MDA seviyelerinde önemli derecede artışla birlikte antioksidan enzim (GPx, CAT ve SOD) aktivitelerinde azalmalar belirlenmiştir. Likopen ve deltametrin birlikte uygulandığı grupta ise MDA seviyesi azalırken antioksidan enzim aktivitelerinde artış tespit edilmiştir. Araştırmacılar likopenin deltametrin etkisiyle oluşan oksidatif stresi önlemede önemli rol oynadığını belirtmişlerdir

Alüminyumun farklı derişimlerine 96 saat süre ile maruz bırakılan *C. carpio*'da lenfosit antioksidan enzim aktiviteleri ve LPO incelenmiştir. SOD aktivitesi kontrole göre azalma gösterirken, CAT ve GPx aktiviteleri ile MDA

düzeyinde alüminyum konsantrasyonuna bağlı olarak artışlar gözlenmiştir [Garcia-Medina vd., 2010].

Çevre ve laboratuvar şartlarında imazethapyr ve imazapic derişimlerine maruz bırakılan *C. carpio*'da oksidatif stres parametreleri incelenmiş, her iki grupta da beyin ve kas MDA seviyelerinde ve karaciğer CAT aktivitesinde artışlar belirlenmiştir. AChE aktivitesinde ise kısa dönemde artış, uzun dönemde ise azalmalar tespit edilmiştir [Moraes vd., 2011].

Barbieri ve Ferreira [2011], organofosforlu pestisitlerden Folidol 600 etkisine bırakılan *O. niloticus*'ta AChE aktivitesinde inhibisyon olduğunu belirtmişler, Aminotriazole'a maruz bırakılan *Carassius auratus*'ta CAT ve laktat dehidrogenaz enzim aktivitelerinin kas, karaciğer, böbrek, beyin ve eritrositlerde incelendiği bir çalışmada tüm dokularda CAT aktivitesi azalırken, laktat dehidrogenaz aktivitesinde artışlar gözlenmiştir [Vasylykiv vd., 2011].

Malathion ve CPF'nin *Oxya chinensis*'te antioksidan savunma sistemi ve AChE enzimi üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada ise, pestisitlerin etkisiyle AChE aktivitesi ve MDA seviyelerinde artış gözlendiği, antioksidan enzimlerden SOD ve CAT enzim aktivitelerinin düşük pestisit konsantrasyonlarında artarken, yüksek konsantrasyonlarda azaldığı belirtilmiştir [Wu vd., 2011].

2,4-D herbisitinin ön maddesi olan 2,4-dichlorophenol'e kırk gün süresince maruz bırakılan *C. auratus*'un karaciğerin CAT aktivitesinin ilk 2 günde inhibe olduğu, SOD aktivitesinin ise 5. günde en yüksek artışın görüldüğü bildirilmiştir [Zhang vd., 2005].

Peixoto vd. [2006], *O. niloticus*' ta oxyfluorfen'in oksidatif stres etkilerini inceledikleri bir çalışmada derişim ve süreye bağlı olarak karaciğer katalaz aktivitesinde önemli artışlar belirlemişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. MATERYAL

Araştırmada kullanılan *C. carpio*, Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Tatlı Su İşletmesi'nden alınarak deneylerin yürütüleceği Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Temel Bilimler Araştırma Laboratuvarı'na getirilmiştir. Balıklar, içerisinde dinlendirilmiş musluk suyu bulunan stok tank ve akvaryumlarda bir ay süresince laboratuvar koşullarında adaptasyona bırakılmış ve günde iki kez aynı saatlerde, ağırlıklarının %2'si kadar ticari balık yemi (Çamlı Yem, Türkiye) ile beslenmişlerdir. Laboratuvarda, 12/12 saat aydınlık/karanlık periyodu uygulanmış ve akvaryumlar merkezi havalandırma sistemi ile havalandırılmıştır. Deneyler süresince suyun sıcaklığı 23 ± 1 °C, pH'sı 7.5 ± 0.5 , çözülmüş oksijen seviyesi 6.70 ± 0.15 mg/L, toplam sertlik 230 ± 0.75 CaCO₃, alkalinite ise 154 ± 0.25 , mg/L CaCO₃ aralığında tutulmuştur.

Deneylerde %99 saflıkta olan CPF (Sigma Aldrich) kullanılmıştır.

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Chlorpyrifos (Sigma Aldrich)
- 1-Butanol Riedel de Haen
- Amonyum Sülfat Sigma
- Asetik Asit Merck
- Bakır Klorür Sigma
- Bakır Sülfat Pentahidrat Merck
- Bovine Serum Albumin (BSA) Sigma
- Disodyum Hidrojen Fosfat Merck
- Etil Alkol (Etanol) Merck
- Etilendiamintetraasetikasit (EDTA) Merck
- Folin Ciocalteu's Fenol Reagent Sigma
- Glutatyon Redüktaz Sigma

• Hidrojen Peroksit	Merck
• Ketamin	Pfizer (Keralar flakon)
• Ksalazin	Bayer (Rampum flakon)
• Ksantin	Sigma
• Ksantin Oksidaz	Sigma
• Nitroblue Tetrazolium Klorür (NBT)	Sigma
• Piridin	Riedel de Haen
• Potasyum Dihidrojen Fosfat	Merck
• Potasyum Sodyum Tartarat	Merck
• Redükte L-Glutatyon	Sigma
• Redükte β -NADPH	Sigma
• Sodyum Azid	Sigma
• Sodyum Dodesil Sülfat	Sigma
• Sodyum Hidroksit	Merck
• Sodyum Karbonat	Merck
• Sodyum Klorür	Merck
• Tiobarbitürik Asit (TBA)	Merck
• Trikloroasetik Asit (TCA)	Merck

3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Diğer Gereçler

- Soğutmalı Mikrosantrifuj (Sigma,2-16K)
- Derin Dondurucu (Regal, RDD 1145)
- Etüv (Binder)
- Spektrofotometre (Analytikjena-SPECORD 50)
- Hassas Terazî (Mettler Toledo)
- Buzdolabı (Regal, RBD 4602 NCF)
- Benmari Memmert WB 22
- Vorteks (REAX)
- Mini santrifüj (Eppendorf)

- Distile Su Cihazı (Millipore)
- Mikropipet Seti (Gilson- Pipetman- P20-P100-P1000)
- Homojenizatör (IKA Ultra Turrax T-25)
- Oksijenmetre Mettler-Toledo MO 128
- pH Metre (Mettler Toledo)
- Spektrofotometrik Analiz Küvetleri (Hellma)

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Chlorpyrifosun 96 Saatlik LC₅₀ Değerinin Belirlenmesi

Deneme için balıklar 50 L kapasiteli, dinlendirilmiş ve havalandırılmış çeşme suyu bulunan 6 adet cam akvaryumlara yerleştirilmişlerdir. Her akvaryuma ortalama ağırlığı 20.66 ± 1.21 g, ortalama total boyu 10.70 ± 0.15 cm olan 10'ar balık konulmuştur. Deneyle 24 saat öncesinde Singh vd. [2009] tarafından önerildiği gibi yemleme kesilmiş, deney sırasında balıklara hiç yemleme yapılmamıştır. %99 saflıkta CPF [O,O-diethyl O-3,5,6-trichloropyridin-2-yl phosphorothioate] (Sigma Aldrich) aseton içinde çözündürülerek stok çözelti hazırlanmıştır. 96 saatlik ön denemede geniş aralıklı CPF derişimleri hazırlanarak ana deneyde baz alınabilecek değerler tespit edilmiştir [Anonim 1990].

Ön denemelerden elde edilen sonuçlar ışığında belirlenen yeni derişimler (0.10, 0.50, 1.50, 2.50, 3.50 mg/L) balıklara uygulanmıştır. Kontrol grubuna ise en yüksek derişimin seyreltilmesinde kullanılan aseton hacmi kadar aseton verilmiştir. Balıklarda meydana gelen ölümler ve davranış derişimleri, 24, 48, 72 ve 96 saat süre ile değerlendirilmiştir. Deney süresince akvaryum sıcaklığı, ısıtıcılar kullanılarak $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de sabit tutulmuştur. Deneme %95'lik güven sınırının belirlenmesinde her derişim için iki seri olarak yapılmıştır.

Biyodeny süresince *C. carpio* bireylerinde meydana gelen davranış derişimleri kontrol grubu ile karşılaştırılarak tespit edilmiştir.

3.2.2. Chlorpyrifosun Subletal Derişim Uygulamaları

Deneyle, her bir grup için belirlenen süreler dikkate alınarak, 3 seri halinde yürütülmüş ve her seride 40 cm x 100 cm x 40 cm boyutlarında 160 L kapasiteli ve içerisinde 120 L su bulunan 4 adet cam akvaryum kullanılmıştır. Her akvaryuma 11.02 ± 0.19 cm boyunda ve 23.36 ± 1.23 g ağırlığında 10 adet balık yerleştirilmiştir. Akvaryumlardan bir tanesine CPF'nin en yüksek derişiminin çözündürülmesinde kullanılan aseton miktarı verilerek kontrol amaçlı kullanılmıştır. Diğer üç akvaryuma da CPF'nin önceden belirlenen 96 saatlik LC_{50} değerinin 1/4, 1/8 ve 1/16' sı değerinde olan 0.52, 0.26 ve 0.13 mg/L subletal derişimleri uygulanmıştır.

Balıklar 1, 2, 4 ve 10 gün süre ile pestisit uygulamasına maruz bırakılmışlardır. Denemeler süresince gün aşırı su değişimi yapılmıştır. Deneyle çözeltileri stok çözeltiden uygun seyreltmeler yapılarak değiştirilmiş ve ortam yenilenmiştir. Su değişimi, balıkların dinlendirilmiş ve havalandırılmış su bulunan akvaryumlara aktarılmaları şeklinde gerçekleştirilmiştir. Aktarım sırasında oluşabilecek stresi en aza indirebilmek amacıyla kontrol grubundaki balıklar da benzer şekilde temiz su içeren akvaryumlara aktarılmışlardır. Belirlenen deneyle periyotlarında her akvaryumdan 3'er birey alınarak her grup için 9 birey kullanılmıştır. Beyin omurilik bağlantısı kesilerek öldürülen bu balıkların karaciğer dokuları ayrı ayrı buz üzerinde duran eppendorf tüplere alınarak hızla -20 °C'de dondurulmuştur.

Biyokimyasal analizlere başlamadan önce karaciğer doku örnekleri %9'luk serum fizyolojik çözeltisi içerisinde 10000 devir/dakika hızda 3 dakika süre ile homojenize edilmiştir. Isınma nedeniyle meydana gelebilecek enzim aktivite kaybını önlemek üzere örnekler buz içerisinde homojenize edilmişlerdir. Homojenatlar $+4$ °C'de 13000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiş, elde edilen süpernatant, CAT, SOD, GPx enzim aktiviteleri ile MDA ve protein düzeylerinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

3.2.3. Biyokimyasal Analizler

3.2.3.1. Katalaz enzim aktivitesi tayini

Doku CAT aktivitesi tayini Aebi [1974] yöntemine göre yapılmıştır. Yöntemin esası, H₂O₂ substratının CAT ile enzimatik yıkılmasının 240 nm'de izlenmesidir.



Kullanılan Reaktifler:

Potasyum Dihidrojen Fosfat Çözeltisi (A): 0.681 g KH₂PO₄ bidistile suda çözülerek 100 mL'ye tamamlanır.

Disodyum Hidrojen Fosfat Çözeltisi (B): 2.77 g Na₂HPO₄.12H₂O bidistile suda çözülerek 155 mL'ye tamamlanır.

Fosfat Tamponu (50 mM, pH 7.0): A/B oranı 1/1.55 olacak şekilde karıştırılarak hazırlanır ve pH 7'ye ayarlanır.

Hidrojen Peroksit Çözeltisi (30 mM): 34 µl %30 luk H₂O₂ 10 mL'ye fosfat tamponu ile tamamlanır.

Deneyin Yapılışı: Kuvartz spektrofotometre küvetlerine 10 µl 10.000 g süpernatant fraksiyonu ve üzerlerine 1990 µl fosfat tamponu ilave edilir. Örnek küvetine 1 mL 30 mM H₂O₂ ilave edilir ve hemen karıştırılarak örneğin absorbansındaki azalma köre karşı 1 dakika boyunca 240 nm'de izlenir. Spesifik aktivitesi ünite/mg protein cinsinden hesaplanır.

3.2.3.2. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi tayini

Deneyin Prensibi: Oksidatif yolla enerji üretimi sırasında oluşan endojen ve eksojen kaynaklı toksik süperoksit radikallerinin suya ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandıran SOD enzim aktivitesinin ölçüm prensibi, ksantin varlığında ksantin oksidazın açığa çıkardığı süperoksit radikallerinin nitroblue

tetrazolium (NBT) ile 560 nm'de absorblanan rengin ölçülmesine dayanır [Sun vd., 1988].

Kullanılan Reaktifler:

Sodyum Hidroksit Çözeltisi (0,1 N): 0.4 g NaOH bidistile suda çözülerek 100 mL'ye tamamlanır.

Stok Ksantin Çözeltisi (3 mM): 4.6 mg ksantin tartılıp, 1 mL 0,1 N NaOH çözeltisinde hafif ısı uygulaması ile çözülerek bidistile su ile 10 mL'ye tamamlanır. Çözelti +4 °C'de bir hafta dayanıklıdır.

Ksantin Çözeltisi (0,3 mM): Stok ksantin çözeltisinden 1 mL alınarak bidistile su ile 10 mL'ye tamamlanır. Her deney günü taze olarak hazırlanır.

Etilendiamintetraasetik Asit Çözeltisi (0.6 mM): 22.32 mg Na₂EDTA. 2H₂O bidistile suda çözülerek 100 mL'ye tamamlanır.

Sodyum Karbonat Çözeltisi (400 mM): 4.24 g Na₂CO₃ bidistile suda çözülerek 100 mL'ye tamamlanır.

BSA Çözeltisi (1 g/L): 10 mg BSA bidistile suda çözülerek 10 mL'ye tamamlanır.

Nitroblue Tetrazolium Klorür (NBT) Çözeltisi (0.15 mM): 1.226 mg NBT bidistile suda çözülerek 10 mL ye tamamlandı. Her deney günü taze olarak hazırlanır.

SOD Çalışma Reaktifi: 10 mL 0.3 mM ksantin, 5 mL 0.6 mM Na₂EDTA, 3 mL 400 mM Na₂CO₃, 1.5 mL 1 g/L BSA, 5 mL 0.15 mM NBT karıştırılarak her deney günü taze olarak hazırlanır.

Amonyum Sülfat Çözeltisi (2 M): 26.428 g (NH₄)₂SO₄ bidistile suda çözülerek 100 mL'ye tamamlanır.

Ksantin Oksidaz Çözeltisi (167 U/L): 2 mg ksantin oksidaz soğutulmuş (NH₄)₂SO₄ çözeltisinde çözülerek 1 mL'ye tamamlanır.

Bakır Klorür Çözeltisi (0,8 mM): 13.64 mg CuCl₂.2H₂O bidistile suda çözülerek 100 mL'ye tamamlanır.

Deneyin Yapılışı: 2.85 ml SOD reaktifi örnek ve kör tüpüne aktarılır. Örnek tüpüne 100 µl süpernatant ilave edilir ve her iki tüpe de 50 µl ksantin oksidaz eklenir.

Tüpler 25 °C'de 20 dakika inkübe edildikten sonra tüplere 100 µl CuCl₂ çözeltisi eklenir. En son aşama olarak da kör tüpüne 100 µl süpernatant eklenerek karıştırılır. Kör ve örnek tüplerinin 560 nm'de absorbansları ayrı ayrı ölçülüp SOD aktivitesi tespit edilir. Spesifik aktivite U/mg protein cinsinden ifade edilir.

3.2.3.3. Glutatyon peroksidaz aktivitesi ölçümü

Deneyin Prensipleri: GPx tarafından katalizlenen reaksiyonda GSH'nın H₂O₂ ile oksidasyonu sonucu oluşan GSSG'nin glutatyon redüktaz (GSSG-Rd) kataliziyle tekrar GSH'a dönüşmesi sırasında tüketilen NADPH derişimi üzerinden 340 nm'de oluşan absorbans azalmasının 4 dakika boyunca izlenmesi prensibine dayanır [Jocelyn, 1970].



Kullanılan Reaktifler:

Fosfat tamponu	0.05 M (pH 6.8) (5mM EDTA içerir)
Redükte L-Glutatyon çözeltisi	0.15 M
NADPH çözeltisi	7.2 mM
Glutatyon Redüktaz çözeltisi	100 U/mg protein/mL
Sodyum Azid çözeltisi	2 M
Hidrojen Peroksit çözeltisi	30 mM

Yöntem:

GPx enzim aktivitesini ölçmek için çözeltiler kör ve örnek olmak üzere farklı küvetlere Çizelge 3.1.'de gösterildiği oranlarda eklenir.

Çizelge 3.1. Glutatyon peroksidaz yöntemi

	Örnek (Doku Homojenizatı)
Fosfat Tamponu	2.65 mL
Redükte Glutatyon çözeltisi	0.1 mL
NADPH çözeltisi	0.1 mL
Glutatyon Redüktaz çözeltisi	0.01 mL
Sodyum Azid çözeltisi	0.01 mL
Örnek	0.1 mL
Hidrojen Peroksit çözeltisi	0.1 mL

Hazırlanan çözelti 25 °C'de 2 dakika inkübe edildikten sonra 340 nm'deki absorbansı ölçülür ve bu değere karşı spektrofotometre sıfırlanır. Bu çözelti üzerine 0.1 ml H₂O₂ çözeltisi eklenerek 4 dakika boyunca enzim aktivitesindeki düşüş gözlenir.

Her numune ve kontrol tüpü için optik absorbans (OD) değerleri kullanılarak, Δ OD/dk değerleri hesaplanır. Daha sonra numunenin Δ OD/dk değerlerinden kontrol değerleri çıkarılarak net Δ OD/dk değerleri elde edilir. Doku GPx aktivitesi, miligram protein başına (U/ mg protein) spesifik aktivite cinsinden verilir.

3.2.3.4. Malondialdehid ölçümü

Lipid peroksidasyon ürünlerinden en stabili olan MDA'nın tiobarbitürik asit ile reaksiyonu sonucu oluşan pembe kırmızı rengin absorbansının spektrofotometrik olarak değerlendirilmesi esasına dayanmaktadır. Bu çalışmada Ohkawa [1979]'nın Tiobarbitürik asit reaksiyon metodu kullanılmıştır.

Kullanılan Reaktifler:

Stok tetrametoksiopropan çözeltisi: 0.92 gr tetrametoksiopropan 1 mL'de çözülür.

Günlük tetrametoksiopropan çözeltisi: 10 mL'lik stok çözelti 100 mL'ye distile su ile tamamlanır. Çalışma sırasında günlük çözelti tekrar 1/10 oranında seyreltilir.

SDS çözeltisi: 8.1 gr SDS tartılıp 100 mL'ye distile su ile tamamlanır ve çözülür.

Asetik Asit çözeltisi: 20 mL asetik asit distile su ile 100 mL'ye tamamlanır ve pH'sı 3,5'e ayarlanır.

TBA çözeltisi: 0.8 gr TBA tartılıp 100 mL'ye distile su ile tamamlanır ve ısıtılarak çözülür.

n-bütanol-piridin çözeltisi (15:1): Stok piridin 1 mL'si 15 mL n-bütanol ile karıştırılır.

Yöntem:

MDA miktarını ölçmek için çözeltiler kör ve örnek olmak üzere farklı tüplere Çizelge 3.2.'de gösterildiği oranlarda eklenir.

Çizelge 3.2. Malondialdehid yöntemi

	Kör	Standart	Örnek
Standart (1/10 seyreltilmiş) (µL)	-	50	-
Örnek (µL)	-	-	50
SDS çö z. (µL)	100	100	100
Asetik Asit çöz. (µL)	750	750	750
TBA çöz. (µL)	750	750	750
Distile su (µL)	400	350	350

Tüpler 95 °C'de 30 dakika süre ile inkübe edilir. Musluk suyunda soğutulur. 500 µL distile su eklenir. Çözeltiye 2.5 mL n-bütanol-piridin karışımı eklenip tüpün kapağı kapatılarak karışım beyazlaşmaya kadar vortekslenir. 4000 rpm'de 15 dakika santrifüjlenir. Süpernatant fazdan 1 mL alınıp 532 nm'de köre karşı spektrofotometrik olarak ölçülür. Sonuçlar standart grafikten değerlendirilir.

3.2.3.5. Protein ölçümü

Doku protein miktarları CAT, SOD, GPx spesifik enzim aktiviteleri ile MDA düzeylerini hesaplamak amacıyla çalışılmıştır.

Deneyin Prensipleri:

Yöntem alkali şartlarda proteinlerin peptid bağlarındaki nitrojenler ile tirozin atıklarının, bakır ile bakır-peptid bağı protein kompleksini oluşturmaları ve bakır tarafından okside olan halkaların fosfotungstik asit-molibdik asit ayırıcını (Folin-Ciocalteu ayırıcı) heteropolimolibdenum mavisine indirgemeleri sonucunda oluşan mavi rengin şiddetinin 750 nm dalga boyunda spektrofotometrede belirlenmesi prensibine dayanmaktadır [Lowry, 1951].

Kullanılan Reaktifler:

A Reaktifi: 0.1 N NaOH çözeltisi kullanılarak %2'lik Na₂CO₃ çözeltisi hazırlanır.

B₁ Reaktifi: %1'lik CuSO₄.5H₂O çözeltisi hazırlanır.

B₂ Reaktifi: %2'lik Na-K-Tartarat çözeltisi hazırlanır.

B Reaktifi: B₁ ve B₂ eşit hacimde karıştırılır.

C Reaktifi: 50 mL B reaktifine 1mL A reaktifi eklendi. Reaktif taze hazırlanmalı ve bekletilmeden kullanılmalıdır.

D Reaktifi: 1 mL Folin-Ciocalteus-Phenol Reaktifi, 5 mL distile su ile karıştırılır.

Protein standart çözeltisi: 250 mg/100 mL bovin serum albümin (BSA) 20, 40, 80, 160, 320, 640 µg/mL protein içerecek şekilde seyreltilerek çalışma standartları hazırlanır.

Yöntem:

Protein ölçmek için çözeltiler, kör ve örnek olmak üzere farklı tüplere Çizelge 3.3.'te gösterildiği oranlarda eklenir.

Çizelge 3.3. Protein ölçümü

	Kör tüpü	Örnek tüpü	Standart
Numune (µL)	-	300	-
Distile su (µL)	300	-	-
Standart (µL)	-	-	300
C reaktifi (µL)	3000	3000	3000
Vortekslenerek karanlık dolapta 20 dakika bekletilir.			
D reaktifi(µL)	300	300	300

Tüpler vortekslenerek 20-30 dakika oda ısısında inkübe edilir. Spektrofotometrede 750 nm'de numunenin ve standardın absorbansı köre karşı okunur. Her bir örnek için doku protein miktarı, BSA standart çözeltileri ile hazırlanan standart eğrisine göre ve dilüsyon faktörüyle çarpılarak hesaplanır.

3.2.4. İstatistiksel Analizler

CPF'nin *C. carpio* bireyleri üzerinde 96 saatlik LC₅₀ değeri, SPSS 10.0 paket programında Probit Analiz yöntemi ile hesaplanmıştır [Finney, 1971]. CAT, SOD, GPx ve MDA değerleri bakımından analiz sonuçları, OneWay-Anova varyans analizi yöntemiyle, ortalamalar arası farkın önem kontrolü Duncan testi uygulanarak yapılmıştır. Deney verileri aritmetik ortalama \pm standart hata şeklinde hesaplanmıştır. Önemlilik derecesi olarak P<0.05 kabul edilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. BULGULAR

Bu çalışmada organofosforlu pestisitlerden CPF'nin *C. carpio* üzerine 96 saatlik LC₅₀ değerinin etkileri davranış değişimleri ile birlikte değerlendirilmiştir. Ayrıca CPF'nin *C. carpio* karaciğer dokusunda bazı antioksidan enzim ve LPO üzerine etkileri 1, 2, 4 ve 10 gün süreyle araştırılmıştır. Enzim aktivitelerinin U/mg protein olarak belirtebilmek için ise tüm dokuların protein düzeyleri ölçülmüştür.

4.1.1. Chlorpyrifosun 96 Saatlik LC₅₀ Değeri

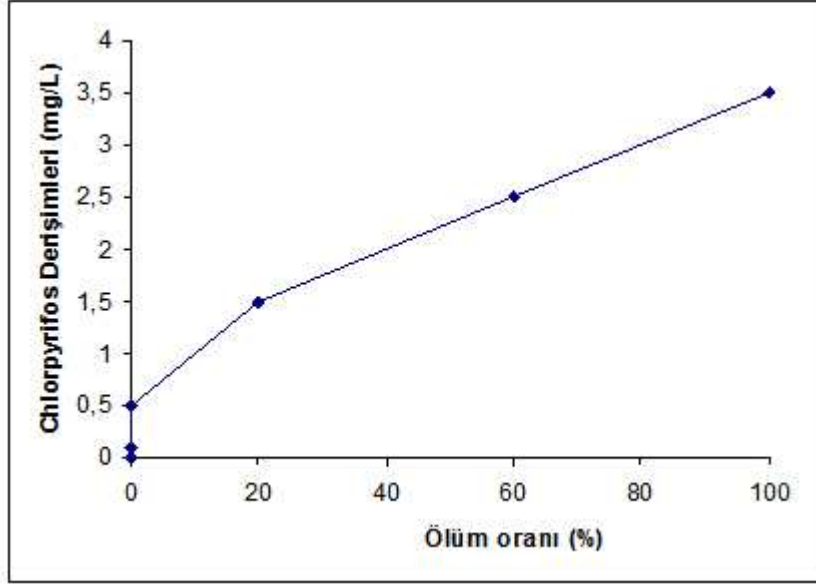
C. carpio için CPF'nin 96 saatlik LC₅₀ değeri 2.08 mg/L olarak tespit edilmiştir. Uygulanan CPF derişim değerleri ve güven aralıkları Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. CPF'nin *C. carpio* için hesaplanan 96 saat'lik LC₅₀ ve diğer letal derişim değerleri

Probit Noktaları	Derişimler (mg/L)	%95 Güven Sınırları
0.01	0.97625	0.30755 - 1.35887
0.05	1.21810	0.51561 - 1.58160
0.10	1.37065	0.67649 - 1.72162
0.15	1.48423	0.81024 - 1.82814
0.50	2.07820	1.61414 - 2.53648
0.85	3.15099	2.57233 - 5.59524
0.90	3.15099	2.57233 - 5.59524
0.95	3.54560	2.81288 - 7.30753
0.99	4.42398	3.28741 - 12.20117

Çalışmada *C. carpio*'ya uygulanan CPF derişimlerine bağlı ölüm oranları ve davranış değişimleri 96 saat süresince kayıt edilmiştir. Şekil 4.1'de CPF derişimlerine bağlı olarak belirlenen ölüm oranları (%) gösterilmiştir. Deney

süresince kontrol grubunda ve düşük derişimlerde (0.10 ve 0.50 mg/L) balıklarda herhangi bir ölüm gözlenmemiştir. 1.50 mg/L CPF uygulanan grupta 96 saatlik süre sonunda %20 düzeyinde ölüm gözlenirken, 2.50 mg/L CPF uygulanan grupta ise %60 ölüm saptanmıştır. En yüksek derişim olan 3.50 mg/L CPF uygulanan grupta, deney sonunda %100 ölüm belirlenmiştir.



Şekil 4.1. 96 saatlik sürede CPF derişimlerine bağı olarak *C. carpio*'da belirlenen ölüm oranları (%)

Deney süresince CPF'nin balık davranışları üzerine etkileri, kontrol akvaryumu balıklarıyla karşılaştırılarak ortaya konulmuştur. 0.10 ve 0.50 mg/L CPF uygulanan balıkların hareketlerinde durgunluk meydana gelirken ölüm gözlenmemiştir. 1.50 mg/L CPF uygulanan grupta ise 24. saatte denge kaybı ve uzun süreli hareketsiz kalma gözlenmiş, aynı grubun 48. saatinde denge kaybına ek olarak hızlı solungaç hareketleri, düzensiz yüzme ve durgunluk saptanmıştır. 2.50 mg/L CPF uygulanan grupta 24. saatte 3 ölüm gözlenirken, su yüzeyine inip çıkma, çırpınma, titreme ve gruptan ayrı yüzme davranışları gözlenmiştir. En yüksek derişim olan 3.50 mg/L CPF uygulanan balıkların genel hareketlerinde daha fazla azalma ve akvaryum tabanında yan dönme şeklinde davranışlar gözlenmiştir (Şekil 4.2 a-b).



(a)



(b)

Şekil 4.2. CPF'nin akut toksik etkisindeki *C. carpio*'da gözlenen hareketler.
(a: Sıçrama hareketi, b: Bir köşeye toplanma)

4.1.2. Chlorpyrifosun Subletal Derişim Uygulamaları ve Biyokimyasal Analizler

CPF'nin 96 saatlik LC₅₀ değerinin (2.08 mg/L) 1/4 (0.52 mg/L), 1/8 (0.26 mg/L) ve 1/16 (0.13 mg/L)' sı değerinde üç subletal derişim balıklara 1, 2, 4 ve 10 gün süreyle uygulanmıştır.

Balıkların 10 günlük deney sürecinde, CPF'nin subletal derişimlerine göre davranış ve morfolojileri gözlenmiş, 0.52 mg/L uygulanan grupta 8. gün 1 balıkta, 10. gün ise 3 balıkta kuyruk omuru eğriliği gözlenmiştir (Şekil 4.3 a-b). Hareketlerde yavaşlama, bir köşeye toplanma ve yem alımında azalma tespit edilmiştir. 0.26 mg/l uygulanan grupta ise 10. günde 1 balıkta kuyruk omuru eğriliği ve hareketlerinde yavaşlama gözlenmiş, deney süresince balıklarda mortalite olmamıştır.



(a)



(b)

Şekil 4.3. CPF'nin subletal derişimleri etkisinde *C. carpio*'da gözlenen hareket ve morfolojik değişimler (a: bir köşeye toplanma, b: kuyruk omur eğriliği)

CPF'nin 0.13, 0.26 ve 0.52 mg/L düzeylerindeki üç farklı subletal derişimlerinin *C. carpio* karaciğer dokusu antioksidan enzim aktiviteleri ve MDA düzeyi üzerine etkileri ise Çizelge 4.2-4.5'te verilmiştir.

Farklı CPF ortam derişimleri etkisinde kalan *C. carpio*'da karaciğer dokusu CAT enzim aktivitesinde günlere göre önemli artışlar gözlenmiştir. 0.13 mg/L CPF uygulama grubunda deneyin birinci ve dördüncü günlerinde kontrole göre bir fark görülmezken ($P>0.05$), diğer günlerde istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) artışlar kaydedilmiştir. 0.26 ve 0.52 mg/L CPF gruplarında CAT enzim aktivitesinin süreye bağlı olarak artış gösterdiği, deneyin onuncu gününde en yüksek seviyeye ulaştığı belirlenmiştir. Aynı maruz bırakılma süresinde, CPF derişiminin arttırılması da CAT enzim aktivitesinde önemli artışlara neden olmuştur (Çizelge 4.2).

SOD aktivitesi incelendiğinde (Çizelge 4.3), 0.13 mg/L CPF uygulama grubunda kontrole göre deney süresince herhangi bir değişim gözlenmemiştir. Birinci gün tüm deney gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir farklılık gözlenmezken, diğer günlerde 0.26 ve 0.52 mg/L CPF gruplarında temas süresine bağlı olarak anlamlı artışlar saptanmıştır ($P<0.05$).

GPx enzim aktivitesinde günlere ve CPF derişim artışına göre önemli oranda ($P<0.05$) artışlar görülmüştür(Çizelge 4.4). 0.13 mg/L deneme grubunda GPx enzim aktivitesi uygulamadan itibaren artış gösterirken, onuncu gününde kontrole yakın seviyede bulunmuştur. Diğer CPF gruplarında deney süresince kontrole göre önemli artışlar olurken, dördüncü günde en yüksek enzim aktivitesi kaydedilmiştir ($P<0.05$).

MDA düzeylerindeki değişimler incelendiğinde (Çizelge 4.5), deneyin birinci günü CPF gruplarında kontrol grubuna göre önemli bir farklılık görülmezken, diğer günlerde önemli artışlar saptanmış, istatistiksel olarak en önemli artış 0.26 ve 0.52 mg/L CPF gruplarında dördüncü gün görülmüştür ($P<0.05$).

Çizelge 4.2. CPF'nin subletal derişimlerine maruz bırakılan *C. carpio*'nun karaciğer dokusu CAT enzim aktivitelerinin (U/mg protein) temas süresine bağlı değişimleri

Derişim (mg/L)	SÜRE (Gün)			
	1	2	4	10
	$\bar{X} \pm SH$ *	$\bar{X} \pm SH$ *	$\bar{X} \pm SH$ *	$\bar{X} \pm SH$ *
0.00	344.55±18.90 ^{ax}	352.41± 15.74 ^{ax}	352.60± 12.04 ^{ax}	353.19± 15.70 ^{ax}
0.13	373.06±19.50 ^{ax}	425.31± 12.36 ^{bx}	404.04± 18.09 ^{ax}	504.89± 22.61 ^{by}
0.26	406.72±13.15 ^{bx}	568.12± 17.56 ^{cy}	562.25± 16.64 ^{by}	602.86 ± 25.86 ^{cz}
0.52	634.12±27.18 ^{cx}	779.60±10.58 ^{dy}	973.25± 23.54 ^{cz}	989.36 ± 28.64 ^{dz}

* : Farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistiksel ayırım bulunmaktadır. a, b, c ve d harfleri aynı süre içerisinde gruplar arasındaki ayırımı, x, y ve z harfleri ise aynı grup içerisinde süreler arasındaki ayırımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır.

$\bar{X} \pm SH$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

Çizelge 4.3. CPF'nin subletal derişimlerine maruz bırakılan *C. carpio*'nun karaciğer dokusu SOD enzim aktivitelerinin (U/mg protein) temas süresine bağlı değişimleri

Derişim (mg/L)	SÜRE (Gün)			
	1	2	4	10
	$\bar{X} \pm SH$ *	$\bar{X} \pm SH$ *	$\bar{X} \pm SH$ *	$\bar{X} \pm SH$ *
0.00	3.25 ± 0.12 ^{ax}	3.19 ± 0.11 ^{ax}	3.36 ± 0.11 ^{ax}	3.39 ± 0.08 ^{ax}
0.13	3.11 ± 0.13 ^{ax}	3.43 ± 0.13 ^{ax}	3.20 ± 0.10 ^{ax}	3.25 ± 0.06 ^{ax}
0.26	3.31 ± 0.10 ^{ax}	4.19 ± 0.12 ^{by}	4.53 ± 0.20 ^{by}	4.30 ± 0.09 ^{by}
0.52	3.40 ± 0.10 ^{ax}	3.98 ± 0.10 ^{by}	5.32 ± 0.18 ^{cz}	5.48 ± 0.22 ^{cz}

* : Farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistiksel ayırım bulunmaktadır. a, b ve c harfleri aynı süre içerisinde gruplar arasındaki ayırımı, x, y ve z harfleri ise aynı grup içerisinde süreler arasındaki ayırımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır.

$\bar{X} \pm SH$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

Çizelge 4.4. CPF'nin subletal derişimlerine maruz bırakılan *C. carpio*'nun karaciğer dokusu GPx enzim aktivitesinin (U/mg protein) temas süresine bağlı değişimleri

Derişim (mg/L)	SÜRE (Gün)			
	1	2	4	10
	$\bar{X} \pm SH$ *	$\bar{X} \pm SH$ *	$\bar{X} \pm SH$ *	$\bar{X} \pm SH$ *
0.00	6.35 ± 0.35 ^{ax}	6.04 ± 0.12 ^{ax}	6.39 ± 0.31 ^{ax}	6.62 ± 0.37 ^{ax}
0.13	13.31 ± 0.58 ^{bx}	11.68 ± 0.75 ^{bx}	16.03 ± 0.46 ^{by}	8.55 ± 0.55 ^{az}
0.26	14.36 ± 1.03 ^{bx}	14.12 ± 0.25 ^{bx}	22.00 ± 1.28 ^{cy}	14.94 ± 0.62 ^{bx}
0.52	15.47 ± 1.24 ^{bx}	22.54 ± 1.73 ^{cy}	32.84 ± 3.37 ^{dy}	18.54 ± 0.95 ^{cx}

* : Farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistiksel ayırım bulunmaktadır. a, b, c ve d harfleri aynı süre içerisinde gruplar arasındaki ayırımı, x, y ve z harfleri ise aynı grup içerisinde süreler arasındaki ayırımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır.

$\bar{X} \pm SH$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

Çizelge 4.5. CPF'nin subletal derişimlerine maruz bırakılan *C. carpio*'nun karaciğer dokusu MDA düzeylerinin (nmol/mg protein) temas süresine bağlı değişimleri

Derişim (mg/L)	SÜRE (Gün)			
	1	2	4	10
	$\bar{X} \pm SH$ *	$\bar{X} \pm SH$ *	$\bar{X} \pm SH$ *	$\bar{X} \pm SH$ *
0.00	25.22 ± 1.26 ^{ax}	24.77 ± 1.09 ^{ax}	26.44 ± 1.11 ^{ax}	24.35 ± 1.08 ^{ax}
0.13	24.26 ± 2.79 ^{ax}	30.18 ± 0.91 ^{by}	32.49 ± 1.16 ^{ay}	33.52 ± 1.86 ^{by}
0.26	23.05 ± 1.82 ^{ax}	28.20 ± 0.76 ^{bx}	41.20 ± 1.61 ^{by}	26.50 ± 1.09 ^{ax}
0.52	22.88 ± 1.00 ^{ax}	30.09 ± 0.37 ^{by}	66.84 ± 4.21 ^{cz}	30.38 ± 0.90 ^{by}

* : Farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistiksel ayırım bulunmaktadır. a, b ve c harfleri aynı süre içerisinde gruplar arasındaki ayırımı, x, y ve z harfleri ise aynı grup içerisinde süreler arasındaki ayırımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır.

$\bar{X} \pm SH$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

4.1.2.1. *C. carpio* karaciğer dokusu antioksidan enzim aktiviteleri ve malondialdehid düzeyi üzerine chlorpyrifos subletal derişimlerinin etkileri

CPF'nin 0.13, 0.26 ve 0.52 mg/L düzeylerindeki üç farklı Subletal derişimlerinin *C. carpio* karaciğer dokusu antioksidan enzim aktiviteleri ve MDA düzeyi üzerine etkileri uygulanan süre ve derişim göz önünde bulundurularak değerlendirilmiştir.

Süreye bağlı değişimler

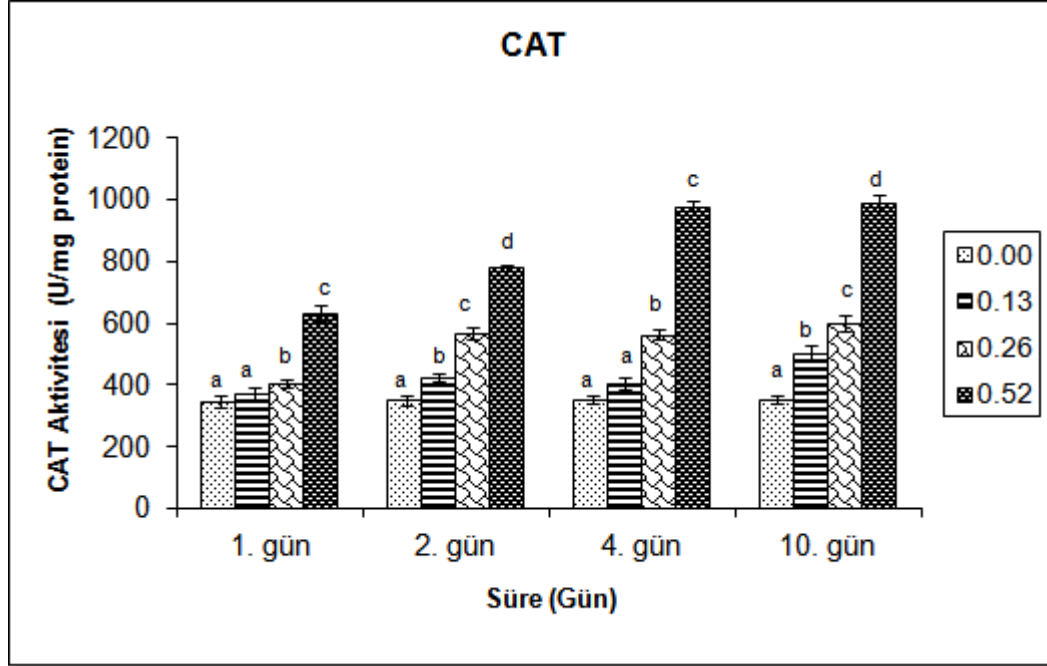
CPF'nin subletal derişimlerinin 1, 2, 4 ve 10. günlerde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu CAT aktivitesi üzerine etkileri Şekil 4.4 'te gösterilmiştir.

CPF, günlere ve derişim artışına göre, *C. carpio* karaciğer dokusu CAT aktivitesini önemli oranda ($P < 0.05$) artırmıştır. Birinci gün en önemli artış, kontrole göre %84 oranla 0.52 mg/L CPF uygulama grubunda belirlenmiştir. 0.26 mg/L CPF uygulama grubunda ise %18 bir artış saptanmıştır.

İkinci gün tüm deneme gruplarında CAT aktivitesinde önemli artışlar gözlenmiştir ($P < 0.05$). En düşük CPF uygulama grubunda (0.13 mg/L) kontrole göre %20, 0.26 mg/L uygulama grubunda %61 artış olmuş, en yüksek derişim grubunda (0.52 mg/L) ise, CAT aktivitesinde %121'lik yükselme belirlenmiştir.

Uygulamanın dördüncü gününde ise 0.13 mg/L CPF grubunda kontrole göre önemli derecede bir değişim gözlenmemiş ($P > 0.05$), 0.26 mg/L uygulama grubunda ise %59'luk bir artış olurken, 0.52 mg/L uygulama grubunda oldukça önemli bir artış (%176) kaydedilmiştir ($P < 0.05$).

Deneyin onuncu gününde tüm gruplarda kontrole göre CAT aktivitesinde istatistiksel olarak önemli artışlar gözlenmiştir ($P < 0.05$). Bu artışlar, en düşük CPF uygulama grubunda (0.13 mg/L) %43, ikinci uygulama grubunda (0.26 mg/L) %70 ve en yüksek derişim grubunda ise (0.52 mg/L) %180' e ulaşmıştır.



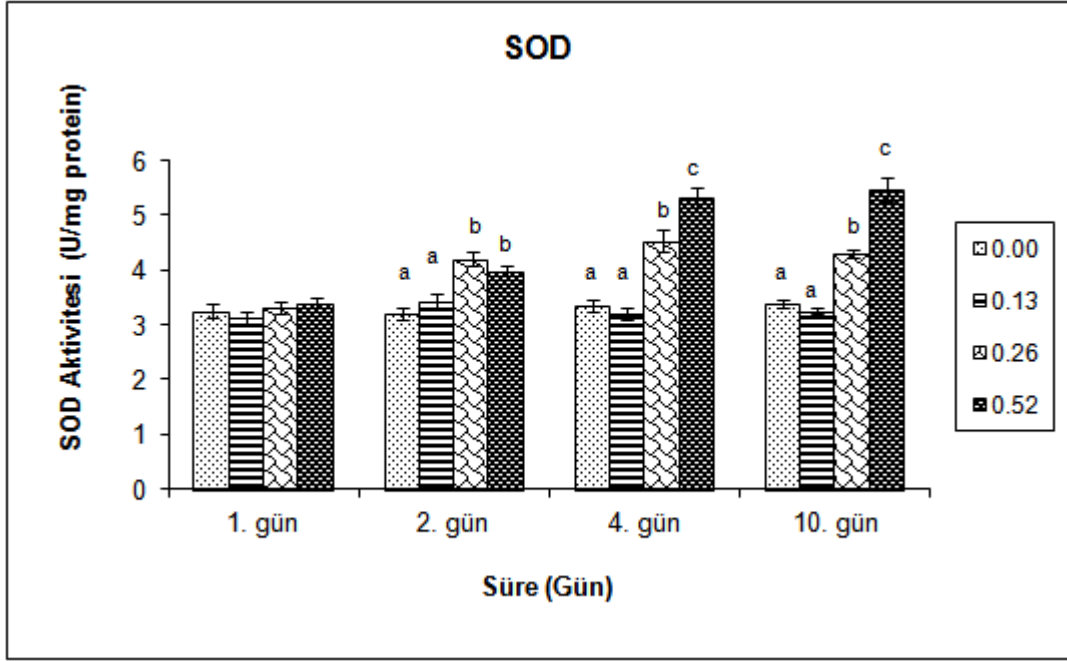
Şekil 4.4. CPF'nin subletal derişimlerinin etkisine bırakılan *C. carpio*'nun karaciğer dokusu CAT enzim aktivitesinin süreye göre değişimi

CPF'nin subletal derişimlerinin 1., 2., 4. ve 10. günlerde *C. carpio*'nun karaciğer SOD aktivitesi üzerine etkileri Şekil 4.5'te gösterilmiştir. SOD aktivitesinde, en düşük CPF uygulama grubunda (0.13 mg/L) kontrole göre deney süresince herhangi bir değişim kaydedilmemiştir ($P>0.05$). Birinci gün tüm deney gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir farklılık gözlenmemiştir ($P>0.05$).

Deneyin ikinci günü, 0.26 mg/L ve 0.52 mg/L CPF uygulama gruplarında SOD aktivitesinde kontrole göre istatistiksel olarak önemli artışlar belirlenmiştir ($P<0.05$). Bu artışlar 0.26 mg/L CPF grubunda %31 iken, 0.52 mg/L uygulama grubunda %25 olarak kaydedilmiştir.

Dördüncü günde ise 0.26 mg/L ve 0.52 mg/L CPF uygulama grubunda SOD aktivitesinde kontrole göre sırasıyla %35 ve % 58 artış bulunmuştur ($P<0.05$).

Uygulamanın onuncu gününde 0.26 mg/L ve 0.52 mg/L CPF gruplarında yine kontrol grubuna göre önemli artışlar belirlenmiştir ($P<0.05$). SOD enzim aktivitesindeki yükselmeler 0.26 mg/L CPF grubunda %27, 0.52 mg/L CPF grubunda ise %61 düzeyinde olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.5. CPF'nin subletal derişimlerinin etkisine bırakılan *C. carpio*'nun karaciğer dokusu SOD enzim aktivitesinin süreye göre değişimi

CPF'nin subletal derişimlerinin 1., 2., 4. ve 10. günlerde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu Gpx üzerine etkileri Şekil 4.6'da gösterilmiştir.

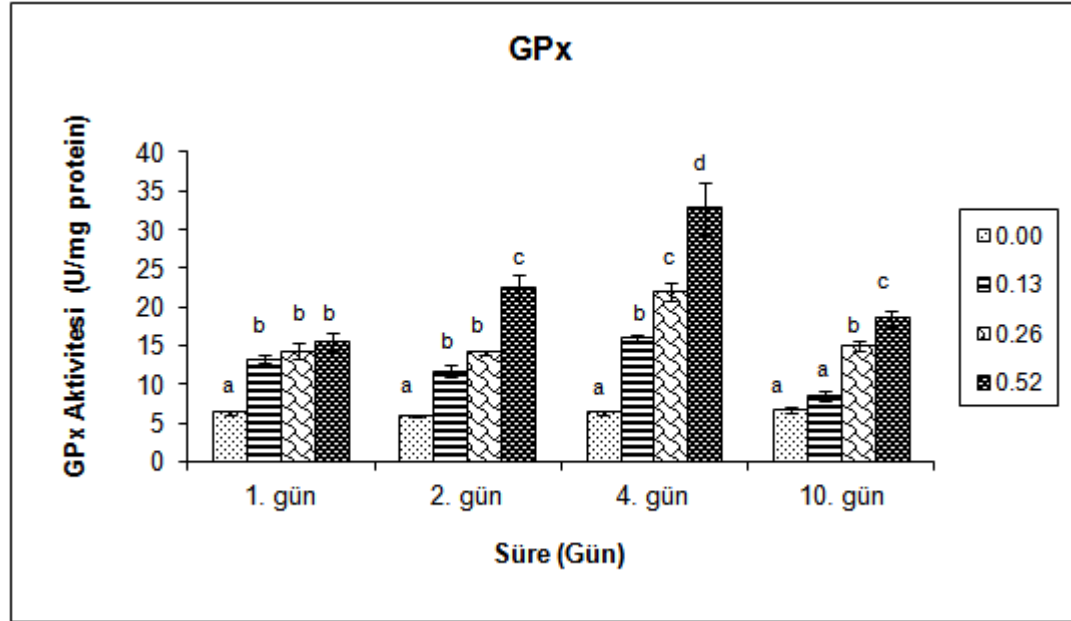
CPF, günlere göre *C. carpio* karaciğer dokusu GPx enzim aktivitesini önemli oranda artırmıştır. Birinci gün 0.13, 0.26 ve 0.52 mg/L CPF uygulama gruplarında kontrole göre sırasıyla %109, %126 ve %143 oranında artışlar gözlenmiştir ($P<0.05$).

İkinci günde CPF grupları GPx aktivitesinde kontrole göre anlamlı farklılıklar göstermiştir ($P<0.05$). 0.13 mg/L CPF uygulama grubunda birinci günde kontrole göre gözlemlenen %109'luk artış miktarı azalarak, %93 seviyesine gerilemiştir. 0.26

mg/L uygulama grubunda bu artış %134'ü bulmuştur. En yüksek derişim grubunda (0.52 mg/L) ise, %273 olarak GPx aktivitesinde en yüksek artış belirlenmiştir.

Deneyin dördüncü gününde GPx aktivitesi yönünden CPF grupları arasında önemli oranda artışlar gözlenmiştir ($P<0.05$). 0.13 mg/L uygulama grubunda kontrole göre %150, 0.26 mg/L CPF grubunda %244'lük bir yükselme kaydedilmiştir. En yüksek CPF derişim grubunda (0.52 mg/L) ise kontrol grubuna göre %413 değerinde oldukça önemli bir artış saptanmıştır.

Denemenin onuncu gününde 0.13 mg/L CPF uygulama grubunda GPx aktivitesi kontrole yakın bulunurken diğer deneme gruplarında anlamlı farklılıklar görülmüştür ($P<0.05$). Bu artışlar, 0.26 mg/L CPF uygulama grubunda %125 ve en yüksek derişim grubunda (0.52 mg/L) %180 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 4.6. CPF'nin subletal derişimlerinin etkisine bırakılan *C. carpio*'nun karaciğer dokusu GPx enzim aktivitesinin süreye göre değişimi

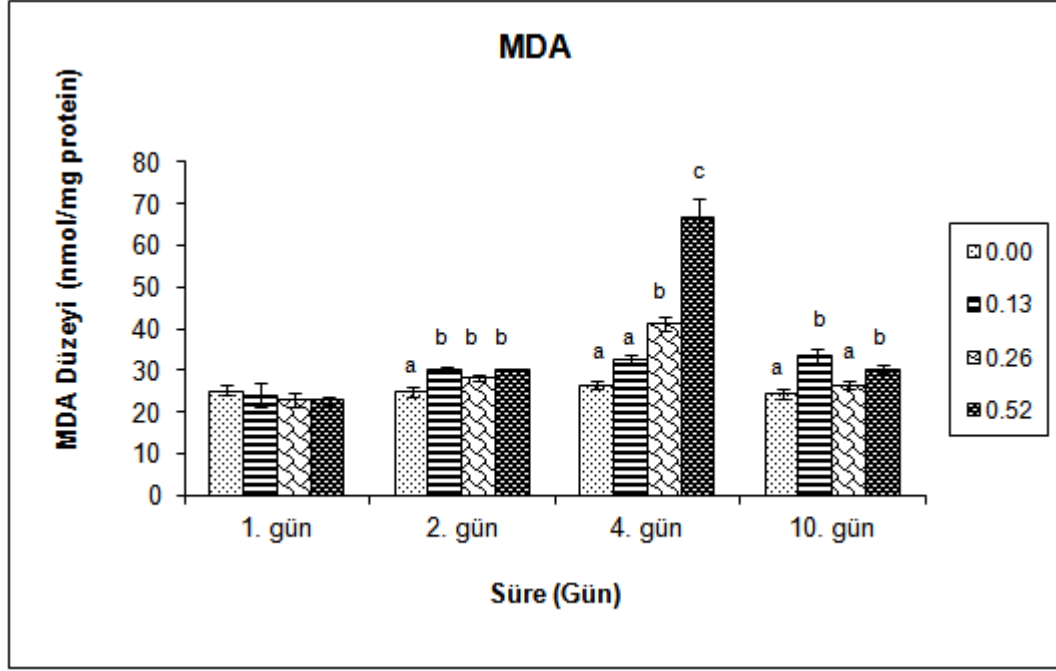
CPF'nin subletal derişimlerinin 1., 2., 4. ve 10. günlerde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu MDA düzeyi üzerine etkileri Şekil 4.7'de gösterilmiştir.

Deneyin birinci günü karaciğer dokusu MDA düzeyinde CPF derişim gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir farklılık gözlenmemekle ($P>0.05$) birlikte diğer günlerde önemli değişimler kaydedilmiştir ($P<0.05$).

İkinci gün CPF derişim grupları arasında kontrole göre önemli artışlar belirlenmiştir ($P<0.05$). MDA seviyesindeki artışlar, 0.13 mg/L derişim grubunda %22, 0.26 mg/L uygulama grubunda %14 ve 0.52 mg/L deney grubunda %21 olarak saptanmıştır.

Uygulamanın dördüncü gününde en düşük derişim (0.13 mg/L) grubunda kontrole göre önemli bir farklılık gözlenmezken ($P>0.05$), diğer gruplarda (0.26 mg/L ve 0.52 mg/L) önemli artışlar belirlenmiş olup ($P<0.05$), bu artışlar sırasıyla, %55 ve %153 olarak kaydedilmiştir.

MDA düzeyinde onuncu günde, 0.26 mg/L CPF grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli farklılık belirlenmemiştir ($P>0.05$). En düşük (0.13 mg/L) ve en yüksek CPF grubunda sırasıyla %38 ve %25 düzeyinde bir yükselme gözlenmiştir ($P<0.05$).



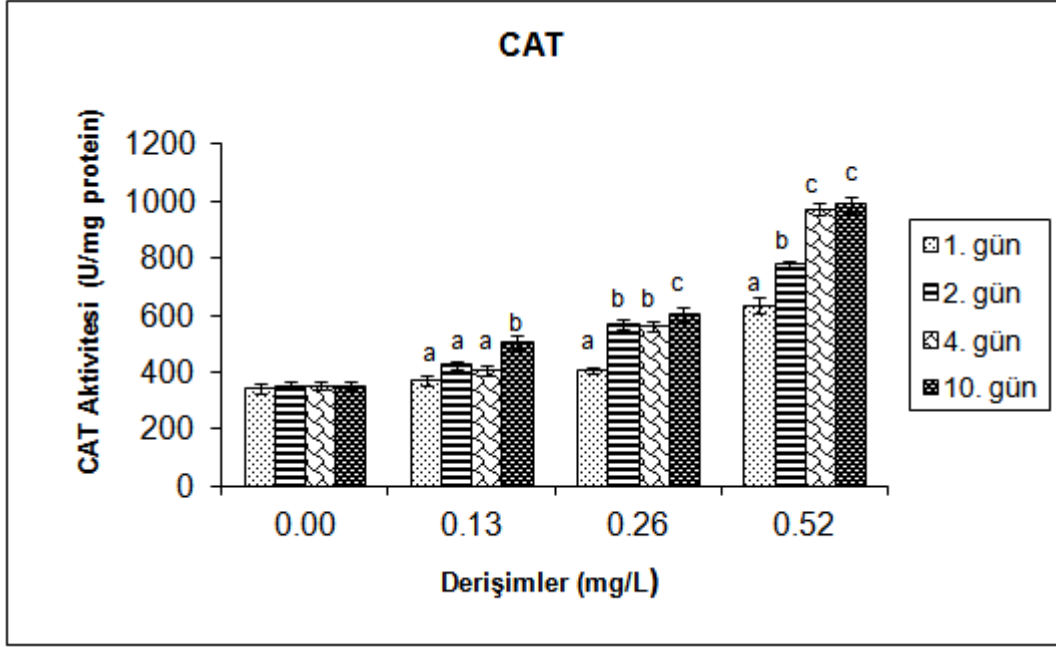
Şekil 4.7. CPF'nin sublethal derişimlerinin etkisine bırakılan *C. carpio*'nun karaciğer dokusu MDA düzeyinin süreye göre değişimi

Derişime bağlı değişimler

CPF'nin subletal derişimlerinin 1., 2., 4. ve 10. günlerde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu CAT aktivitesi üzerine etkileri Şekil 4.8 'de gösterilmiştir. Her deney grubu kendi içerisinde değerlendirilmiş, buna göre kontrol grubunda tüm deneme periyodunda CAT enzim aktivitesi yönünden istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır ($P>0.05$).

En düşük CPF derişiminin (0.13 mg/L) uygulandığı grupta ise CAT enzim aktivitesi birinci güne göre incelendiğinde, sadece onuncu gününde önemli bir artış (%35) gösterdiği ($P<0.05$), diğer günlerde ise birinci güne göre belirgin bir farklılık göstermediği belirlenmemiştir ($P>0.05$). 0.26 mg/L deneme grubunda CAT aktivitesi yönünden iki, dört ve onuncu günlerde birinci güne göre önemli artışlar belirlenmiştir ($P<0.05$). Bu artışlar ikinci günde %39, dördüncü günde %38 ve onuncu günde %49 düzeyinde görülmüştür. 0.52 mg/L CPF uygulama grubunda ise,

birinci güne göre, ikinci gün %22, dördüncü gün %53 ve onuncu gün %56 seviyelerinde artışlar kaydedilmiştir.

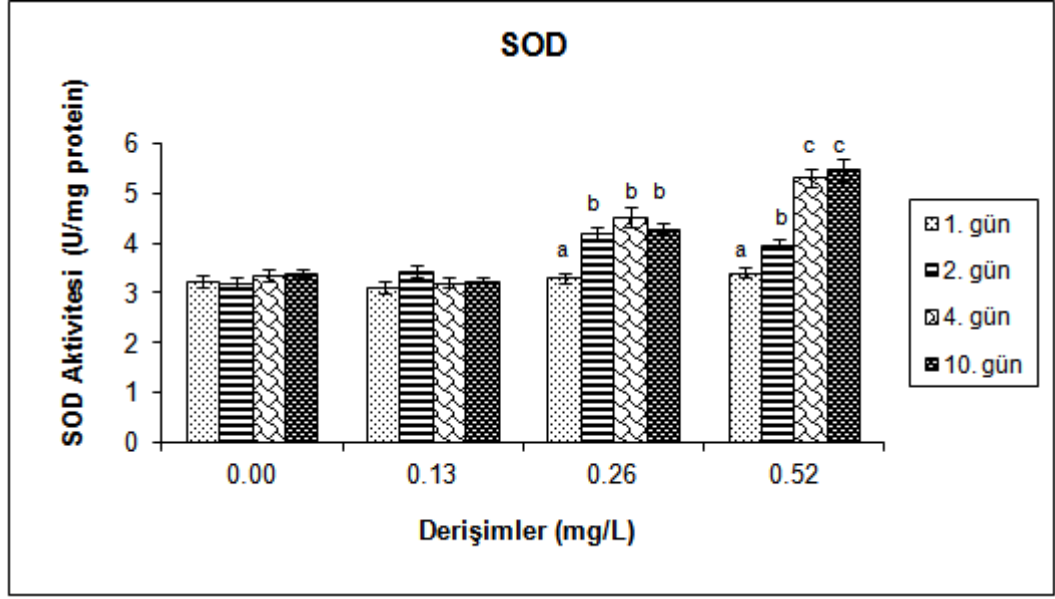


Şekil 4.8. CPF etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu CAT aktivesinde derişime bağlı değişimler

Chlorpyrifosun subletal ortam derişimlerinin *C. carpio* karaciğer dokusu SOD aktivitesi üzerine etkileri Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Kontrol grubu ve 0.13 mg/L CPF uygulama grubunda tüm deneme süresince SOD enzim aktivitesi yönünden istatistiksel olarak önemli farklılık gözlenmemiştir ($P>0.05$). .

0.26 mg/L CPF uygulama grubunda ise SOD aktivitesi diğer günlerde birinci güne göre anlamlı artışlar göstermiş, ikinci gün %26, dördüncü gün %37 ve onuncu gün ise %29 farklılık saptanmıştır ($P<0.05$).

En yüksek derişim olan 0.52 mg/L grubunda ise, SOD aktivitesi birinci güne göre diğer sürelerde artışlar gözlenmiş, bu artışlar ikinci gün %17, dördüncü gün %56 ve onuncu gün ise, % 61 düzeyinde olmuştur ($P<0.05$).



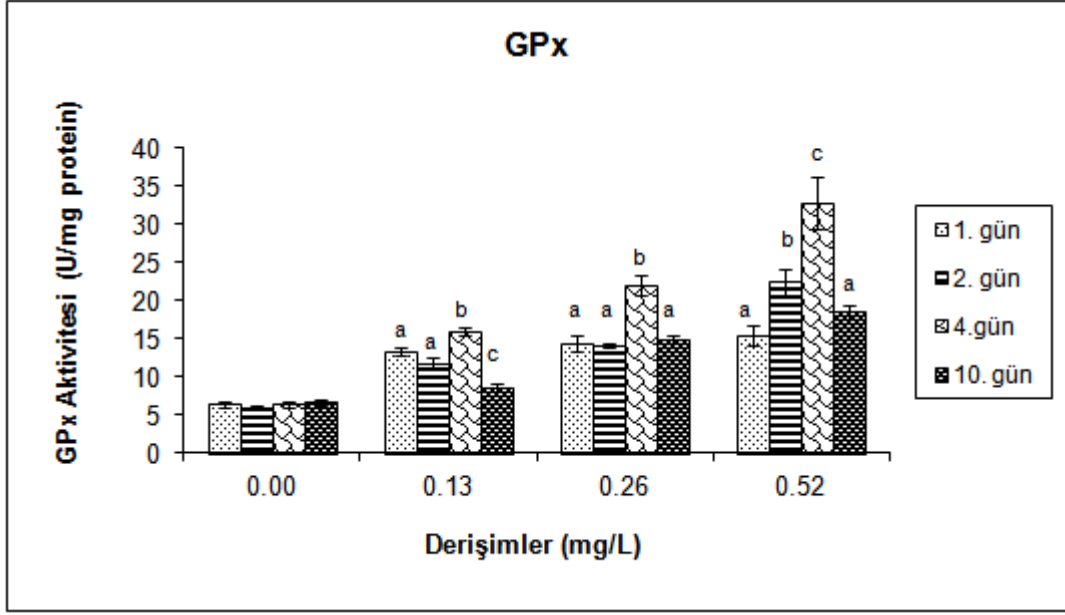
Şekil 4.9. CPF etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu SOD aktivesinde derişime bağı değişimler

CPF'nin subletal derişimlerinin *C. carpio* karaciğer dokusu GPx aktivitesi üzerine etkileri Şekil 4.10 'da gösterilmiştir. Kontrol grubunda tüm deneme süresince GPx enzim aktivitesi yönünden istatistiksel olarak önemli farklılık gözlenmemiştir ($P>0.05$).

0.13 mg/L CPF uygulama grubunda GPx aktivitesi, dördüncü günde birinci güne göre %20'lik bir artış gösterirken, onuncu günde %35 düzeyinde bir azalma kaydedilmiştir.

0.26 mg/L CPF uygulama grubunda GPx aktivitesinde denemenin sadece dördüncü gününde %53 düzeyinde bir artış gözlenirken ($P<0.05$), diğer günlerde birinci güne göre önemli farklılık belirlenmemiştir ($P>0.05$).

En yüksek derişim (0.52 mg/L) uygulama grubunda GPx aktivitesinde denemenin sadece dördüncü gününde %112 olmak üzere önemli artış belirlenmiştir ($P>0.05$). Diğer günlerde birinci güne göre değişim gözlenmemiştir ($P<0.05$).

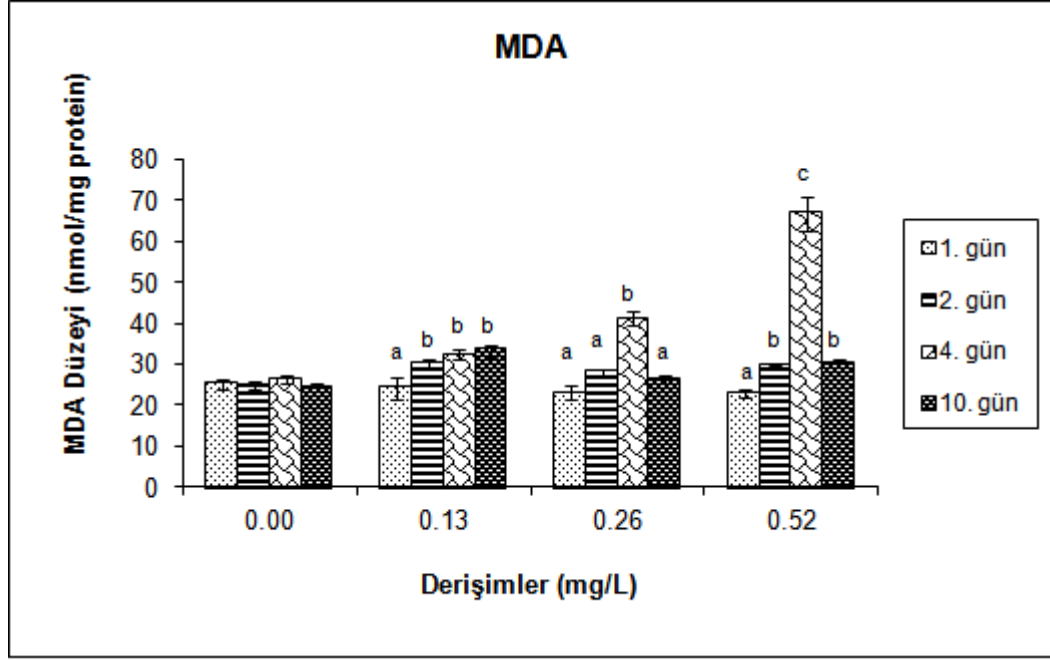


Şekil 4.10. CPF etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu GPx aktivesinde derişime bağılı değişimler

CPF'nin subletal derişimlerinin MDA düzeyi üzerine etkileri Şekil 4.11 'de gösterilmiştir. Kontrol grubunda tüm deneme süresince MDA düzeyi yönünden istatistiksel olarak önemli farklılık gözlenmemiştir ($P>0.05$).

0.13 mg/L CPF uygulama grubunda Malondialdehit düzeyinde denemenin iki, dört ve onuncu günlerinde birinci güne göre sırasıyla %24, %34 ve %38 düzeylerinde önemli artışlar belirlenmiştir ($P<0.05$). 0.26 mg/L CPF uygulama grubunda Malondialdehit düzeyinde yine GPx' a benzer bir şekilde denemenin sadece dördüncü gününde önemli artış (%78) saptanmıştır ($P<0.05$).

En yüksek CPF uygulama grubunda ise (0.52 mg/L) Malondialdehit düzeyinde birinci güne göre diğer günlerde önemli değişimler belirlenmiş ($P<0.05$), bunlar ikinci günde %31, dördüncü günde %192 ve onuncu günde %32 artış olarak kaydedilmiştir.



Şekil 4.11. CPF etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu MDA düzeyinde derişime bağı değişimler

4.1.2.2. *C. carpio*'da chlorpyrifos etkisinde antioksidan enzimlerin karşılaştırılması

CPF subletal ortam derişimleri etkisinde *C. carpio* karaciğer dokusu antioksidan enzim aktiviteleri ile MDA düzeylerinde kontrol grubu ile arasındaki farklar % olarak değerlendirilmiştir.

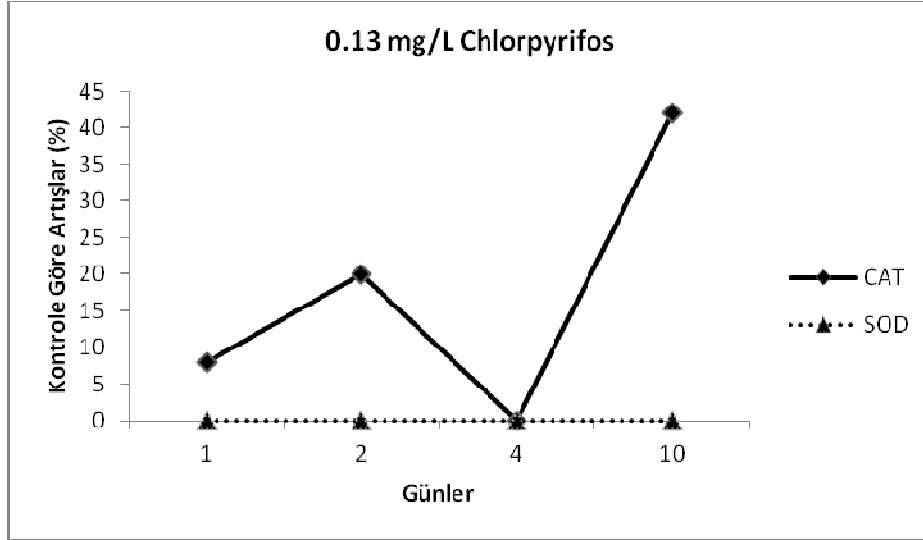
Katalaz-Süperoksit dismutaz

CAT ile SOD enzim aktivitelerinin süreye bağı olarak gösterdiği değişimler Şekil 4.12- 4.14'te verilmiştir.

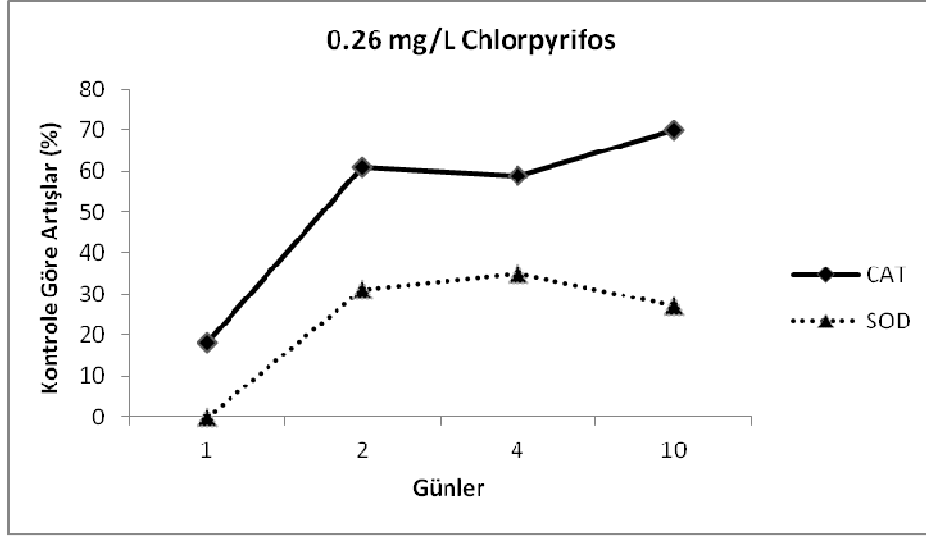
0.13 mg/L CPF grubunda, birinci gün CAT aktivitesinde %8, ikinci gün %20 artış olurken, dördüncü gün kontrole yakın seviyede olduğu saptanmış, onuncu günde ise CAT aktivitesi % 42'lik bir artış göstermiştir. Bu deney grubundaki SOD aktivitesinde ise tüm sürelerde kontrole göre herhangi bir değişim gözlenmemiştir (Şekil 4. 12).

0.26 mg/L CPF grubunda SOD aktivitesindeki değişimler incelendiğinde (Şekil 4.13), birinci gün kontrole göre artış görülmezken, CAT aktivitesinde %18 artış olmuştur. İkinci gün SOD %31, CAT %61, dördüncü gün SOD %35, CAT %59 artmıştır. Dördüncü günden itibaren SOD aktivitesi azalma (%27) gösterirken, CAT aktivitesi artmaya (%70) devam etmiştir.

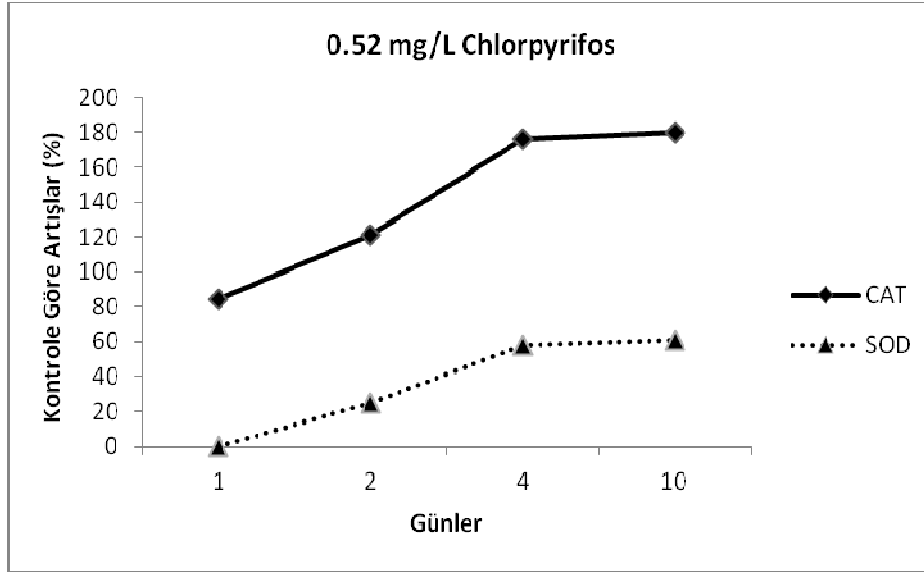
0.52 mg/L CPF grubunda ise (Şekil 4.14), SOD ve CAT enzimleri birinci gün haricinde, benzer artışlar göstermişlerdir. CAT aktivitesinde görülen artışların SOD aktivitesinden daha fazla olduğu saptanmıştır. Dördüncü ve onuncu günlerde görülen artışlar CAT için % 171 ile %180, SOD için %58 ile %60 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 4.12. 0.13 mg/L CPF derişimi etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu CAT ve SOD aktivitelerinin süreye bağlı olarak % değişimleri



Şekil 4.13. 0.26 mg/L CPF derişimi etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu CAT ve SOD aktivitesinin süreye bağılı olarak % değişimleri



Şekil 4.14. 0.52 mg/L CPF derişimi etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu CAT ve SOD aktivitesinin süreye bağılı olarak % değişimleri

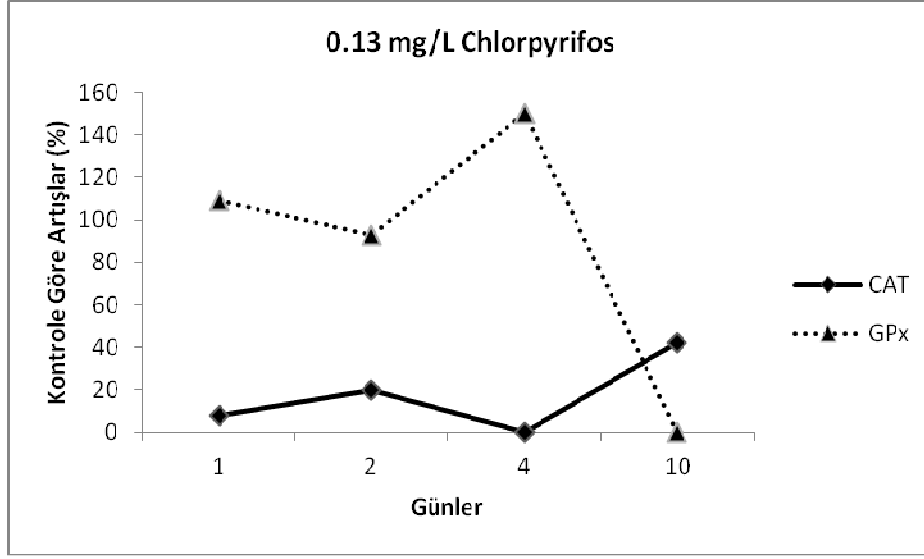
Katalaz-Glutatyon peroksidaz

CAT ile GPx enzim aktivitelerinin farklı CPF derişimlerinde eş zamanlı olarak gösterdiği değişimler Şekil 4.15- 4.17'de verilmiştir.

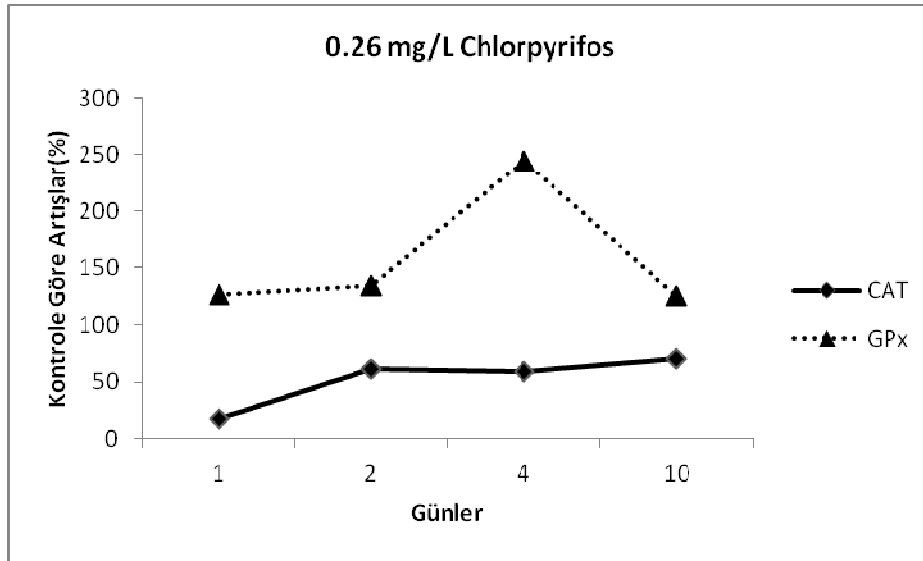
0.13 mg/L CPF grubundaki değişimler incelendiğinde (Şekil 4.15), birinci gün CAT aktivitesinde %8, ikinci gün %20 artış olurken, dördüncü günde kontrole yakın seviyede olduğu saptanmıştır. Onuncu günde ise CAT aktivitesi %42'lik bir artış göstermiştir. GPx aktivitesindeki değişimler incelendiğinde, birinci gün %109, ikinci gün %93, dördüncü gün %150 yükselme görülürken, onuncu günde kontrol grubuna yakın bulunmuştur.

0.26 mg/L CPF grubunda gözlenen değişimler incelendiğinde (Şekil 4.16), GPx aktivitesinin CAT aktivitesinden daha yüksek seyrettiği görülmektedir. Birinci gün CAT aktivitesi %18'lik bir yükselme gösterirken, GPx aktivitesi %126 artmıştır. En yüksek artışını dördüncü günde gösteren GPx aktivitesi kontrole göre %244 farklı bulunmuştur. Bu günden sonra GPx enzim aktivitesinde düşüş gözlenmiş ve onuncu günde birinci güne yakın bir değer aldığı (%125) belirlenmiştir. CAT aktivitesi ise dördüncü gün %59'dan, onuncu gün %70'e yükseldiği görülmüştür.

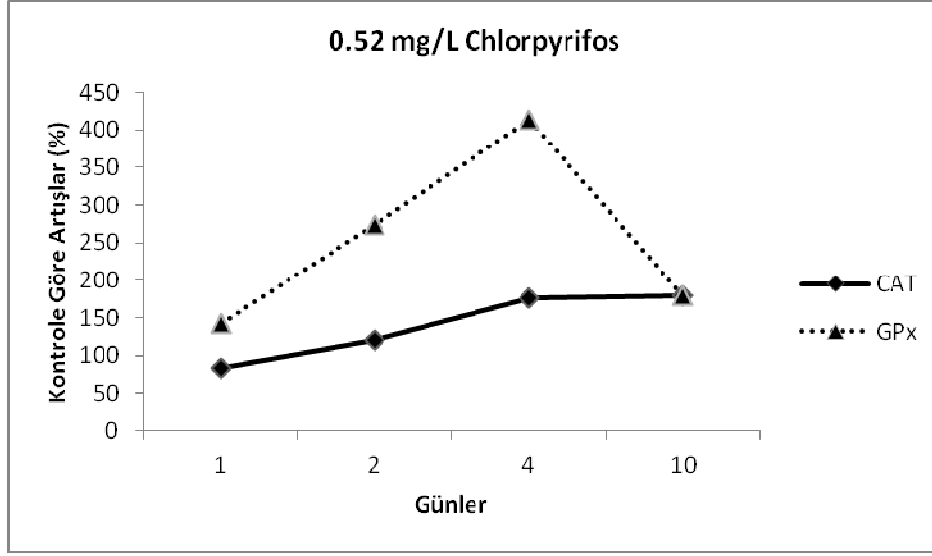
0.52 mg/L CPF grubunda ise (Şekil 4.17), GPx ve CAT enzim aktiviteleri en yüksek artışı dördüncü günde göstermişlerdir. GPx aktivitesinde görülen artışın (%413), CAT aktivitesinden (%176) çok daha fazla olduğu saptanmıştır. Dördüncü günden sonra CAT aktivitesi artmaya devam ederken, GPx aktivitesi azalmış, onuncu günde her iki enzim aktivitesi aynı değeri (%180) göstermişlerdir.



Şekil 4.15. 0.13 mg/L CPF derişimi etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu CAT ve GPx aktivitesinin süreye bağılı olarak % değişimleri



Şekil 4.16. 0.26 mg/L CPF derişimi etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu CAT ve GPx aktivitesinin süreye bağılı olarak % değişimleri



Şekil 4.17. 0.52 mg/L CPF derişimi etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu CAT ve GPx aktivitesinin süreye bağılı olarak % değişimleri

Glutasyon peroksidaz- Süperoksit dismutaz

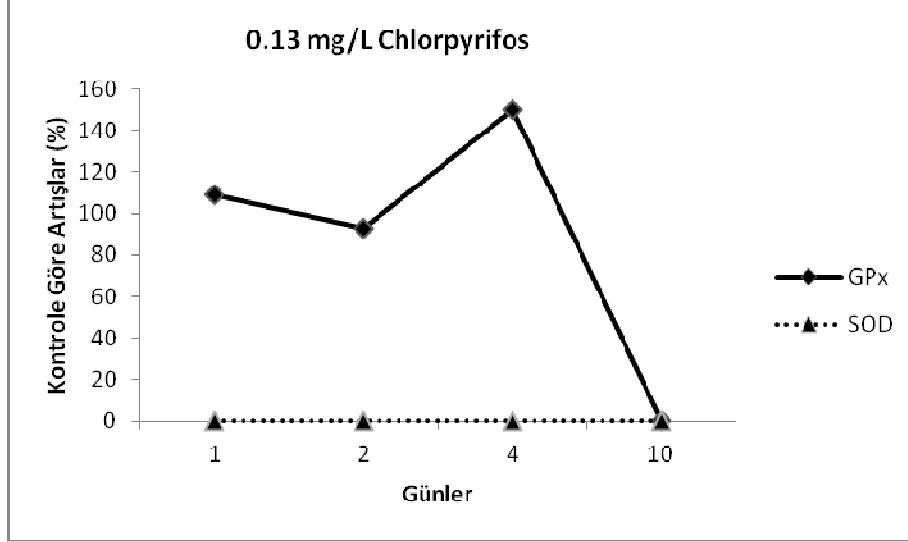
GPx ile SOD enzim aktivitesinin eş zamanlı olarak gösterdiği değişimler Şekil 4.18- 4.20'de verilmiştir.

0.13 mg/L CPF grubunda, GPx aktivitesinde birinci gün %109, ikinci gün %93, dördüncü gün %150 yükselme görülürken, onuncu günde kontrol grubuna yakın bulunmuştur. Bu deney grubundaki SOD aktivitesinde ise tüm sürelerde kontrole göre bir değişim gözlenmemiştir (Şekil 4. 18).

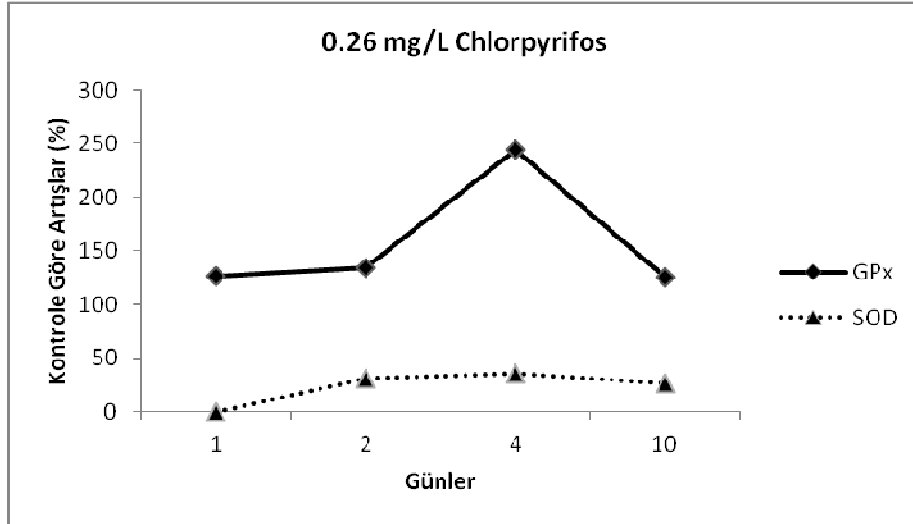
0.26 mg/L CPF grubunda ise (Şekil 4.19), SOD aktivitesinde birinci gün kontrole göre artış görülmezken, GPx aktivitesinde %126 oranında bir artış olmuştur. İkinci gün SOD aktivitesi %31, GPx aktivitesi ise %134, dördüncü gün SOD %35, GPx %244 artış gözlenmiştir. Dördüncü günden itibaren SOD ve GPx aktivitesinde azalma görülmüş, SOD aktivitesi %27' ye, GPx aktivitesi ise %125 seviyesine gerilemiştir.

0.52 mg/L CPF grubunda ise (Şekil 4. 20), SOD enzim aktivitesi günlere göre artmaya devam ederken, GPx aktivitesi dördüncü günden sonra azalmaya

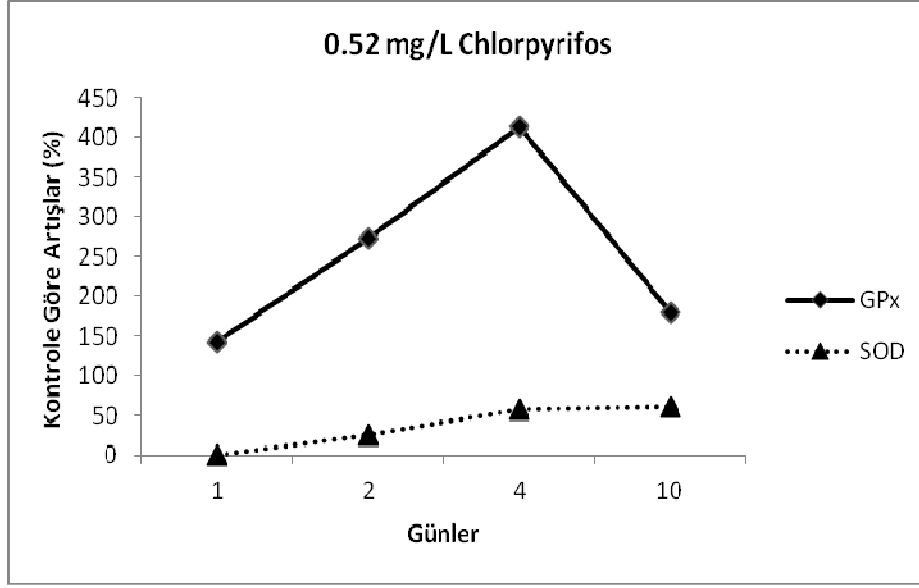
başlamıştır. Dördüncü gün GPx aktivitesinde kontrole göre %413, SOD aktivitesinde ise % 58 aktivite tespit edilmiş, onuncu günde GPx aktivitesi %180, SOD aktivitesi ise % 61 artış sergilemiştir.



Şekil 4.18. 0.13 mg/L CPF derişimi etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu GPx ve SOD aktivitesinin süreye bağılı olarak % değişimleri



Şekil 4.19. 0.26 mg/L CPF derişimi etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu GPx ve SOD aktivitesinin süreye bağılı olarak % değişimleri



Şekil 4.20. 0.52 mg/L CPF derişimi etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu GPx ve SOD aktivitesinin süreye bağı olarak % değişimleri

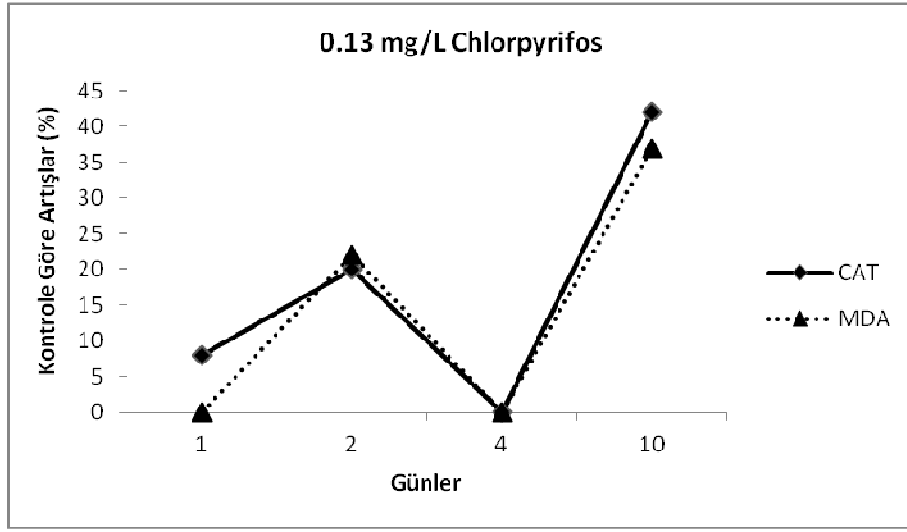
Katalaz-Malondialdehid

CAT enzim aktivitesi ile MDA düzeyinin eş zamanlı olarak gösterdiği değişimler Şekil 4.21- 4.23'de verilmiştir.

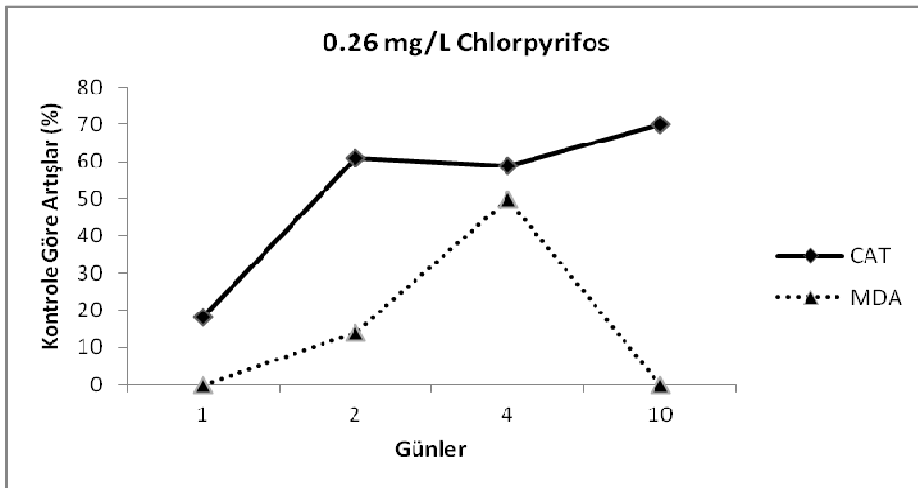
0.13 mg/L CPF grubunda (Şekil 4.21), birinci gün CAT aktivitesinde %8, ikinci gün % 20 artış olurken, dördüncü gün kontrole yakın seviyede olduğu, onuncu günde ise CAT aktivitesinin % 42'lik bir artış gösterdiği saptanmıştır. MDA düzeyi ise deneyin birinci ve dördüncü günlerinde kontrole yakın olup, ikinci gün % 22, onuncu gün ise % 37 oranında bir artış kaydedilmiştir.

0.26 mg/L CPF grubunda ise (Şekil 4.22), CAT aktivitesi ve MDA düzeyi karşılaştırıldığında, birinci gün MDA düzeyinde kontrole göre fark görülmezken, CAT aktivitesi %18 artmış, ikinci ve dördüncü günlerde sabit kalmış (%59-60), onuncu günde ise %70'e artmıştır. MDA düzeyi dördüncü gün %14 iken, onuncu gün kontrole yakın seviyede belirlenmiştir.

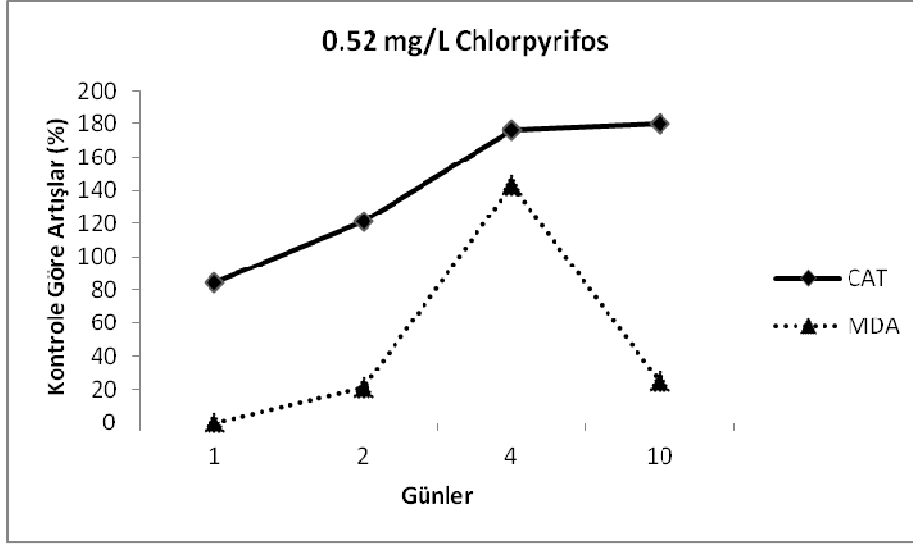
0.52 mg/L CPF grubunda (Şekil 4.23), MDA düzeyinde kontrole göre bir değişim görülmezken, CAT aktivitesi %84 artış göstermiştir. CAT aktivitesi deney süresince artmaya devam ederek dördüncü günde %176, onuncu günde ise %180 artış seviyesine ulaşmıştır. MDA seviyesi ise ikinci gün %21 artış göstermiş, dördüncü günde en yüksek düzeyine (%143) çıkmış, onuncu gün azalarak %25 seviyesine düştüğü gözlemlenmiştir.



Şekil 4.21. 0.13 mg/L CPF derişimi etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu CAT aktivitesi ve MDA düzeyinin süreye bağlı olarak % değişimleri



Şekil 4.22. 0.26 mg/L CPF derişimi etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu CAT aktivitesi ve MDA düzeyinin süreye bağlı olarak % değişimleri



Şekil 4.23. 0.52 mg/L CPF derişimi etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu CAT aktivitesi ve MDA düzeyinin süreye bağılı olarak % değişimleri

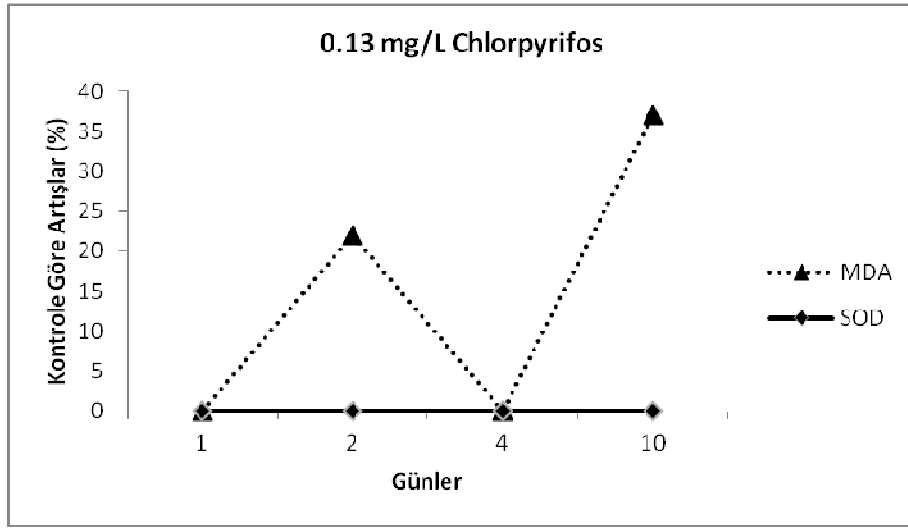
Süperoksit dismutaz- Malondialdehid

SOD enzim aktivitesi ile MDA düzeyinin eş zamanlı olarak gösterdiği değişimler Şekil 4.24- 4.26'da verilmiştir.

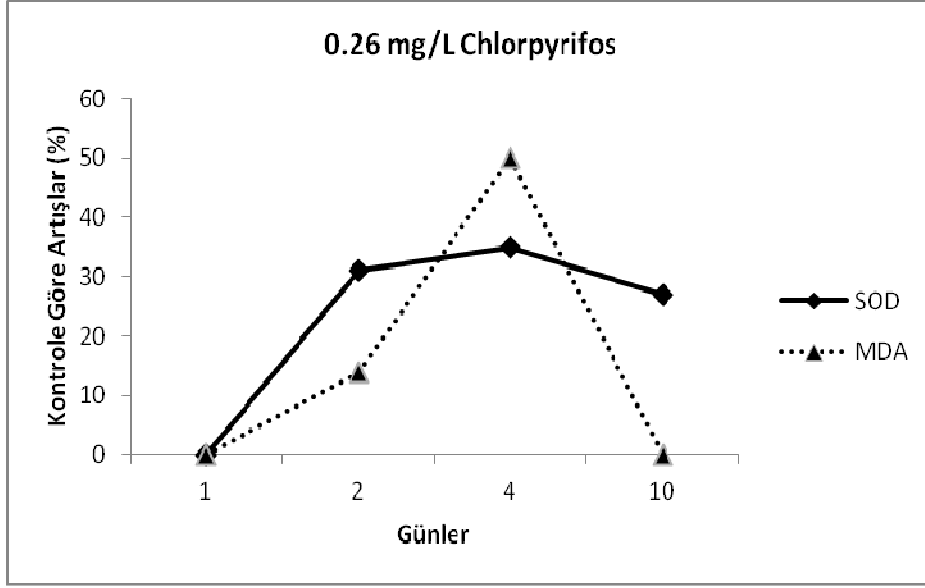
0.13 mg/L CPF grubunda (Şekil 4.24), SOD aktivitesi tüm deney sürelerinde kontrole göre herhangi değişim göstermemiştir. Deneyin birinci günü MDA düzeyinde kontrole göre bir fark görülmezken, ikinci günde %22 bir artış kaydedilmiştir. MDA düzeyi dördüncü gün kontrole yakın seviyede olup, onuncu gün %37 artış göstermiştir.

0.26 mg/L CPF grubunda (Şekil 4.25), SOD aktivitesi ile MDA seviyeleri karşılaştırıldığında, birinci gün her ikisinde de kontrole göre farklılık çıkmamıştır. İkinci gün SOD %31, MDA ise %14 artış gösterirken, dördüncü gün SOD %35, MDA %50 artış göstermiştir. Dördüncü günden itibaren SOD aktivitesinde ve MDA düzeyinde azalma görülerek, onuncu gün SOD % 27 seviyesine inerken, MDA seviyesi kontrole yakın bulunmuştur.

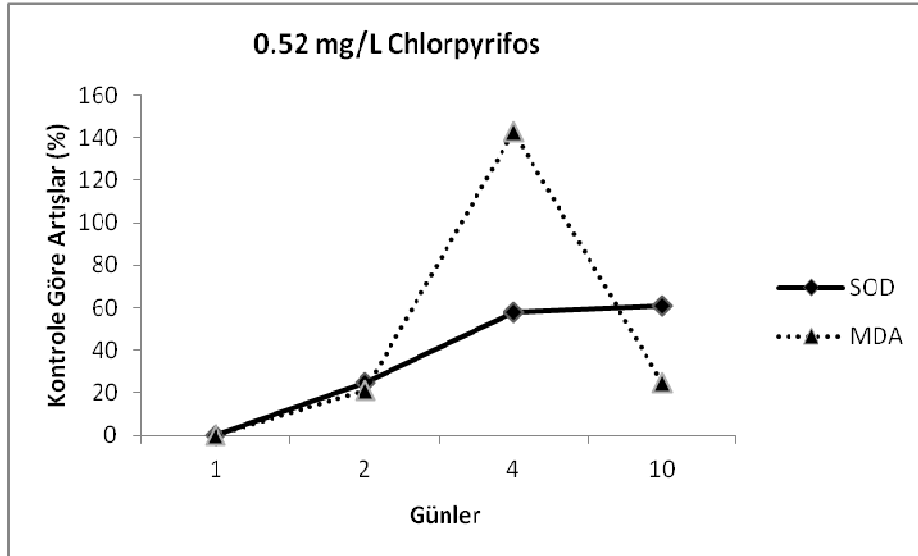
0.52 mg/L CPF grubundaki değişimler incelendiğinde (Şekil 4.26), birinci ve ikinci günlerde her iki parametre de birbirlerine yakın seyir göstermişlerdir. Buna göre birinci gün SOD aktivitesi ile MDA seviyeleri kontrole göre yakın bulunurken, ikinci gün SOD aktivitesinde %25, MDA'da %21 artış gözlenmiştir. SOD aktivitesi günlere göre artmaya devam ederken, en yüksek artışı (%61) onuncu günde göstermiştir. MDA seviyesi ise, dördüncü gün en yüksek düzeyde (%143) olup, onuncu gün %25 seviyesinde belirlenmiştir.



Şekil 4.24. 0.13 mg/L CPF derişimi etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu SOD aktivitesi ve MDA düzeyinin süreye bağlı olarak % değişimleri



Şekil 4.25. 0.26 mg/L CPF derişimi etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu SOD aktivitesi ve MDA düzeyinin süreye bağlı olarak % değişimleri



Şekil 4.26. 0.52 mg/L CPF derişimi etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu SOD aktivitesi ve MDA düzeyinin süreye bağlı olarak % değişimleri

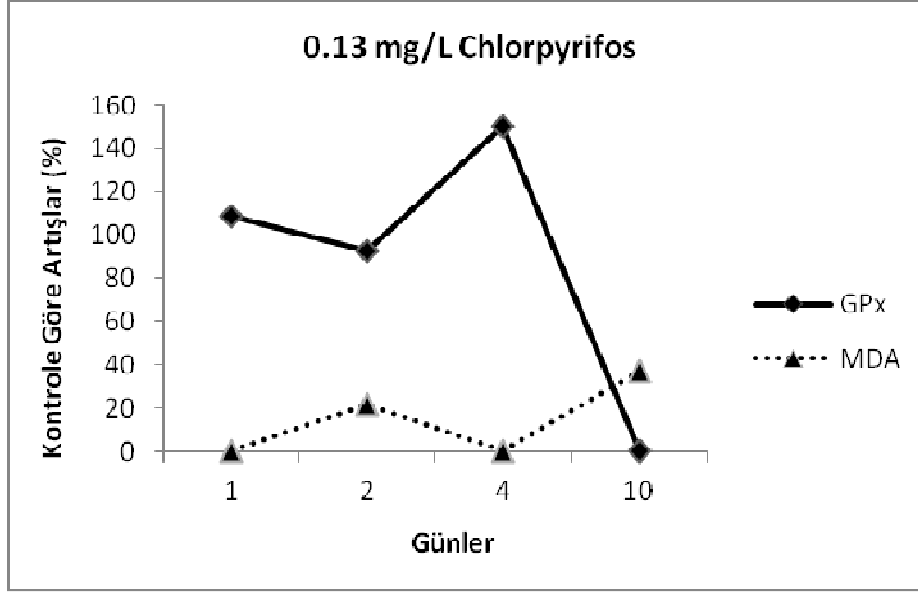
Glutasyon peroksidaz- Malondialdehid

GPx enzim aktivitesi ile MDA düzeyinin eş zamanlı olarak gösterdiği değişimler Şekil 4.27- 4.29'da verilmiştir.

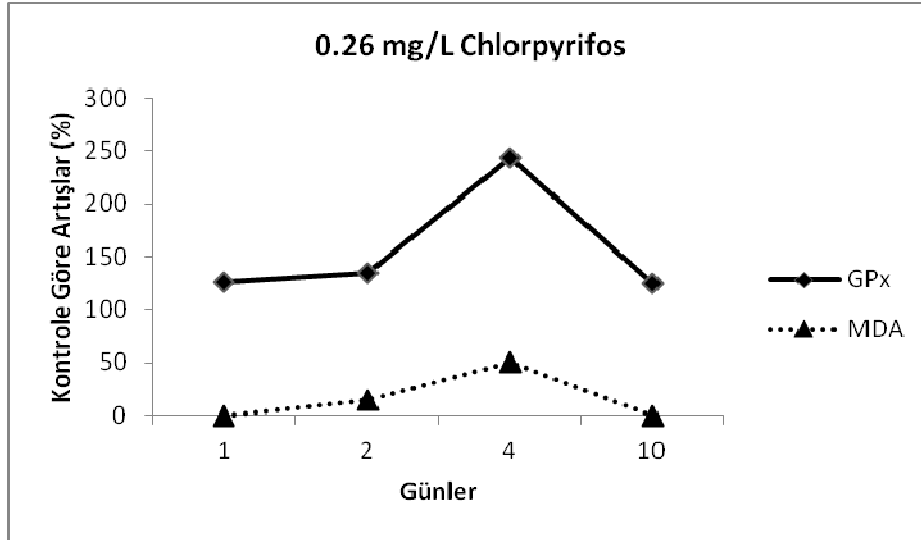
0.13 mg/L CPF grubunda GPx aktivitesi (Şekil4.27), birinci gün %109 iken, MDA düzeyinde herhangi bir değişim gözlenmemiştir. İkinci gün GPx %93, MDA düzeyi ise %22 bulunmuştur. Dördüncü gün GPx %150 yükselme göstermiş, onuncu günde kontrol grubuna yakın bulunmuştur. MDA düzeyi ise dördüncü gün kontrole yakın seviyede olup, onuncu gün %37 artış göstermiştir.

0.26 mg/L CPF grubunun (Şekil 4.28), GPx aktivitesi ve MDA düzeyinin zamana bağlı değişimleri karşılaştırıldığında, en yüksek seviyeler dördüncü günde görülmüştür. MDA miktarında birinci gün kontrole göre farklılık çıkmazken, GPx aktivitesi %126 artmıştır. Dördüncü gün GPx aktivitesi kontrole göre %244 artış göstermiştir. Aynı şekilde MDA düzeyi de %50 farklı bulunmuştur. Bu günden sonra GPx enzim aktivitesinde düşüş gözlenmiş ve onuncu gün birinci güne yakın bir değer aldığı (%125) belirlenmiştir. MDA düzeyi de onuncu gün kontrole yakın seviyede belirlenmiştir.

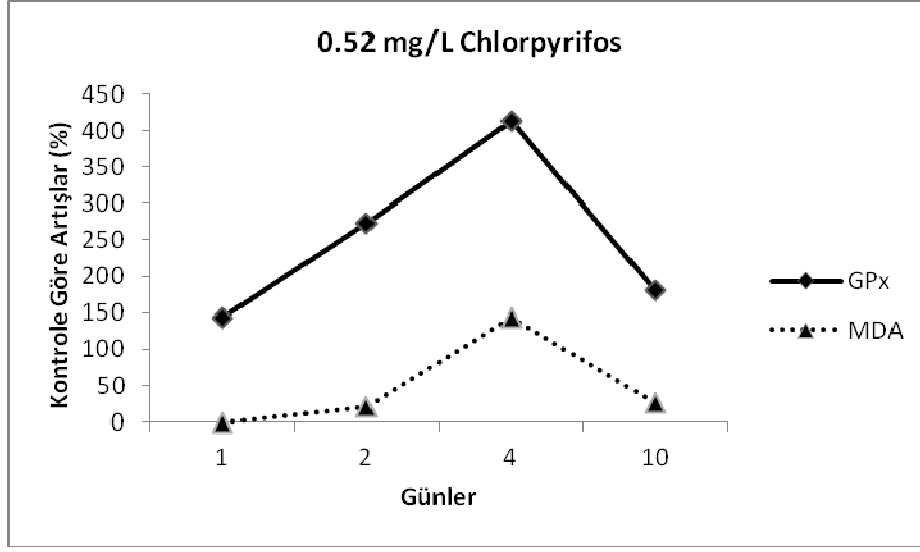
0.52 mg/L CPF grubunda ise (Şekil 4.29), GPx aktivitesi ve MDA seviyeleri en yüksek artışı dördüncü gün göstermişlerdir. GPx aktivitesinde görülen artışın (%413), MDA seviyesinden daha fazla (%143) olduğu saptanmıştır. Dördüncü günden sonra GPx'te görülen azalmayla birlikte MDA seviyesinde de azalma görülmüştür. Onuncu günde belirlenen değerler GPx için % 180, MDA için %25 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 4.27. 0.13 mg/L CPF derişimi etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu GPx aktivitesi ve MDA düzeyinin süreye bağılı olarak % değişimleri



Şekil 4.28. 0.26 mg/L CPF derişimi etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu GPx aktivitesi ve MDA düzeyinin süreye bağılı olarak % değişimleri



Şekil 4.29. 0.52 mg/l CPF derişimi etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer dokusu GPx aktivitesi ve MDA düzeyinin süreye bağılı olarak % değişimleri

4.2. TARTIŞMA

4.2.1. *C. carpio*'da Chlorpyrifos'un 96 Saatlik LC₅₀ Değeri

Pestisitler tarımsal faaliyetlerde zararlıların etkilerini kontrol etmek amacıyla dünya üzerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Tarımsal faaliyetlerin geliştirilmesine paralel olarak pestisitlerin yaygın kullanımı ve ekosisteme rastgele yayılmasından dolayı çevresel etkileri oldukça tartışılmaktadır [Aniladevi ve Kujamma, 2008].

Pestisitlerin neden olduğu balık ölümleri genellikle derişime, balığın maruz kalma süresine ve deneysel faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermekte olup, balığın türüne, büyüklüğüne, o maddeye hassasiyeti ve cinsiyetine göre de farklılıklar göstermektedir [Singh vd., 2009]. Bu çalışmada, *C. carpio* için CPF'nin 96 saat'lik LC₅₀ değeri 2.08 mg/L olarak belirlenmiştir. Çalışma bulgularımıza benzer olarak Dalvi ve Davis [1998], 20 g'lık *Ictalurus punctatus*'ta yaptıkları akut toksisite çalışmasında CPF için 96 saatlik LC₅₀ değerini 2.077 mg/L bildirmişlerdir. Diğer balık türleri üzerinde yapılan çalışmalar ile karşılaştırıldığında farklı sonuçlar ortaya çıkmaktadır. 80 g ağırlığındaki *O. niloticus*'ta yapılan akut toksisite çalışmasında ise CPF'nin 96 saatlik LC₅₀ değeri 1.023 mg/L, *G. affinis* için 0.3 mg/L, *C. punctatus* için ise 0.811mg/L olarak belirlenmiştir [Giron-Pérez vd., 2006; Venkateswara vd., 2005; Daoud vd., 2008].

Bir maddenin akut toksisite değeri balık türlerine göre değiştiği gibi, aynı türün farklı büyüklükteki bireyler arasında da değişiklik göstermektedir. De Mel ve Pathiratne, [2005], 110-340 mg ağırlığındaki *C. carpio* yavrularında yaptıkları bir çalışmada, % 40 saflığındaki ticari CPF'nin 96 saatlik LC₅₀ değerini 0.008 mg/L olarak belirlemişlerdir. Başka bir araştırmada %20 etkin madde içeren CPF'nin, 6 g ağırlığındaki *C. carpio*'da 24 saatlik LC₅₀ değeri 5.28 mg/L olarak bildirilmiştir [Ramesh ve Saravanan, 2008]. Bu çalışmada ise %99 saflıktaki CPF'nin juvenil *C. carpio*'da 96 saatlik LC₅₀ değeri 2.08 mg/L olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar,

CPF'nin toksik etkisinin saflık derecesine, balık büyüklüğü ve ortam şartlarına göre değiştiğini göstermektedir.

Davranış değişiklikleri, potansiyel toksik etkilerin en duyarlı belirteçleridir. Deneysel süresince CPF'nin balık davranışları üzerine etkileri, kontrol akvaryumu balıklarıyla karşılaştırılarak ortaya konulmuştur. Kontrol grubu test süresince normal davranışlar göstermiştir. Kontrol grubuna göre daha az hareketlilik, denge kaybı, düzensiz yüzmeye ve uzun süreli hareketsiz kalma gibi davranış değişimleri gözlenmiştir. Davranış değişimleri uygulamadan bir saat sonra başlamıştır. En düşük derişim olan 0.10 mg/L'de kontrol grubundakine benzer davranışlar gözlenmiştir. 0.50 mg/L'ye maruz kalan balıklar ara sıra denge kaybına uğrarken, 1.50 mg/L'lik derişimde bu olay sıklaşmaya başlamış, 2.50 mg/l'lik derişimde ise hareketsiz kalma, titreme, yüze inip çıkma hareketleri gözlenmiştir. En yüksek derişim (3.50 mg/L) uygulanan balıklar genel hareketlerde daha fazla azalma, uzun süreli ve hareketsizce akvaryumun dip kısmında uzanma ve aniden harekete geçme, akvaryum tabanında yan dönme şeklinde davranışlar göstermişlerdir. Bu sonuçlar Kavitha ve Venkateswara, [2007]'nin sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. *G. affinis*'te CPF'nin subletal derişimlerinin yüzmeye hızına etkilerinin incelendiği bir çalışmada, yüzmeye hızında günden güne azalmalar görüldüğü belirtilmiştir. Bu bulguların CPF'nin nörotoksik etkisiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir [Venkateswara vd., 2005].

Tarım ilaçları tüm abiyotik ortamı özellikle de su ve toprağı kirletmektedirler. Yeraltı sularının ve diğer su kaynaklarının bu yolla kirlenmesi, sucul organizmalar ve balıklar için potansiyel bir tehdit oluşturmaktadır [Selvi vd., 2004]. Çeşitli insektisitlerin akut ve kronik toksisite üzerine çalışmaların artırılması, sucul ekosisteme etkilerinin anlaşılması için gerekli olmaktadır. Bu çalışmadan elde edilen veriler, günümüzde tarım alanlarında yaygın olarak kullanılan CPF'nin *C. carpio* üzerine akut toksisitesinin oldukça yüksek olduğunu, bu gibi insektisitlerin kullanımının kontrol altına alınması gerektiğini göstermektedir. Ayrıca davranış değişikliklerinin, olası toksik etkilerin belirteçleri olarak toksisite çalışmalarında kullanılmalarının faydalı olacağı düşünülmektedir.

4.2.2. Chlorpyrifos'un Subletal Derişimlerinin *C. carpio*'nun Antioksidan Enzim Aktiviteleri ve Lipid Peroksidasyonu Üzerine Etkileri

Antioksidan enzim aktiviteleri ve LPO toksikolojik çalışmalarda sıklıkla tercih edilen biyomarkırlardır. Oksidatif stres ve LPO'nun artışı, koruyucu enzimatik antioksidanların aktivitelerini etkileyebilmektedir ve bu durum oksidatif stres artışının hassas bir göstergesidir [Oruç vd., 2004].

Superoksit anyon radikalleri, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen türleri, oksijen tüketen organizmalar tarafından sürekli olarak üretilmektedir. Ksenobiyotiklere veya toksik kirleticilere maruz kalmak bu endojen ve eksojen ROS'lar arasında bir dengesizlik oluşturarak, organizmalarda doğrudan oksidatif hasara veya antioksidan savunma sisteminde bir zayıflamaya neden olabilir [Valavanidis vd., 2006]. SOD, CAT ve GPx gibi antioksidan enzimleri içeren savunma sistemleri ROS oluşumlarını azaltmaya eğilimlidir [Van der Oost vd., 2003]. Diğer organizmalar gibi balıklar da ROS' u yok eden enzimlerin koruyuculuğunda, yüksek ROS seviyeleriyle mücadele etmektedir [Craig vd., 2007].

Bu çalışmada, organofosforlu pestisitlerden CPF'nin subletal derişimlerinin *C. carpio* karaciğer dokusu bazı antioksidan enzim aktiviteleri ile LPO üzerine etkileri araştırılmıştır. CPF'nin *C. carpio*' da oksidatif strese neden olduğu, antioksidan enzimlerin süreye bağlı olarak verdiği yanıtlardan anlaşılmaktadır. Ayrıca LPO' nun son ürünü olan MDA düzeyindeki değişimler de CPF etkisini göstermektedir. Organofosforlu pestisitlerle yapılan diğer çalışmalarda, kullanılan pestisit, balık türü ve dokuya göre antioksidan enzim aktiviteleri ile LPO' da gözlenen değişimlerin süreye bağlı olarak farklılık gösterdiği bildirilmiştir [Oruç vd., 2004; Durmaz vd., 2006; Metha vd., 2009; Işık ve Çelik, 2008; Sharbidre vd., 2011]. Ayrıca, balıkların oksidatif stres yanıtları ve antioksidan potansiyeli, türlerin yaşam alanı ve beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak da değişmektedir [Ahmad vd., 2000].

Antioksidan savunma sistemin en önemli özelliği, sistemin tüm bileşenlerinin ROS'a karşı bir sinerji oluşturacak şekilde görev almasıdır [Chaudiere ve Ferrai-

Iliou, 1999]. Antioksidan enzimler oksidatif stres tarafından indüklenen anahtar bileşenlerdir. Bu nedenle, hücre homeostazisinin düzenlenmesinde yaşamsal bir öneme sahiptirler ve indüksiyonları kirleticilere karşı verilen tepkinin bir sonucudur [Doyotte vd., 1997].

CAT enzimi prokaryotik ve ökaryotik bütün canlılarda yaygın bir şekilde bulunan antioksidan bir enzimdir. Biyolojik ve biyokimyasal sistemlerde CAT, toksik ve yükseltgen etkiye sahip hidrojen peroksidi hücrelerden uzaklaştırmada önemli rol oynamaktadır [Aydemir ve Kuru; 2003]. SOD ve GPx gibi önemli antioksidan enzimler de olduğu gibi CAT enzimi de oksidatif stresten etkilenmektedir [Çimen vd., 2005].

Bu çalışmada, CPF etkisiyle CAT aktivitesinde günlere ve derişimlere göre önemli artışlar gözlenmiştir. CPF'nin uygulama gruplarında birinci günden itibaren CAT aktivitesinde oluşan artışlar, derişim ve süreye bağlı olarak devam etmiştir. Çevre ve laboratuvar şartlarında imazethapyr ve imazapic'e maruz bırakılan *C. carpio*'da oksidatif stres parametreleri Moraes vd. [2011] tarafından incelenmiş, her iki pestisit grubunda da karaciğer CAT aktivitesinde artışlar belirlenmiştir. Organofosforlu insektisit olan methyl parathionun 96 saat süresince 2 mg/L etkisinde bırakılan *Brycon cephalon*'nun kas, karaciğer ve solungaçlarında CAT aktivitesinde önemli derecede artış saptanmıştır [Monteiro vd., 2006]. Peixoto vd., [2006], *O. niloticus*' ta oxyfluorfen'in oksidatif stres etkilerini inceledikleri bir çalışmada derişim ve süreye bağlı olarak karaciğer katalaz aktivitesinde artışlar belirlemişlerdir. Ritola vd., [2002], CAT enzim aktivitesindeki artışların, H₂O₂ üretiminin artması nedeniyle olabileceğini belirtmişlerdir. Alves vd., [2002], CAT enzim aktivitesindeki artışın, pestisitler tarafından oluşturulan pro-oksidan şartlara adaptif bir yanıt olarak gerçekleştiğini ileri sürmüşlerdir. Bu çalışmada CAT aktivitesinde görülen artışların pestisit toksisitesi sonucu artan H₂O₂ nedeniyle olduğu belirlenmiş, bu bulgular benzer çalışmalarda da bildirilmiştir [Oruç vd., 2004; Peixoto vd., 2006; Moraes vd., 2011]

SOD enzimi, süperoksit anyonunu (O_2^-) enzimatik olarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürür. Metabolik aşamalarda üretimi oldukça fazla olan süperoksit, hücre içi aktivitesini düşük tutarak hücrel O_2^- düzeylerinin kontrolünde ve hücreleri O_2^- radikalinin etkilerinden korumada görev alır. CAT ve SOD enzimleri birbirleriyle yakın ilişkiindedirler. GPx ve CAT enzimleri de bu ürünlerin detoksifikasyonunda rol alır. ROS oluşumları üzerine inhibisyon etkisinden dolayı SOD ve CAT enzimleri oksijen toksisitesine karşı savunmanın ilk ve en önemli basamağındadırlar [Pandey vd., 2003; Van der Oost vd., 2003].

Bu çalışmada en düşük CPF grubunda (0.13 mg/L) SOD aktivitesi deney süresince kontrole göre farklı çıkmamıştır. Aynı şekilde birinci gün tüm deney gruplarında SOD aktivitesinde değişim görülmemiştir. Hexachlorobenzene etkisinde juvenil *C. carpio*'da karaciğer ve beyinde oksidatif stres parametreleri incelendiği bir çalışmada 5. ve 10. günlerde karaciğerde SOD aktivitesinde değişiklik gözlenmediği saptanmıştır [Song vd., 2006]. Bu durumu CAT ve GPx aktivitesinde görülen artışlar nedeniyle olduğu şeklinde açıklamışlardır. Bu çalışmada CPF'nin en düşük derişim (0.13 mg/L) grubunda tüm sürelerde SOD aktivitesinde değişikliğe neden olmaması uygulanan derişimin etki için yeterli olmamasına bağlanabilir.

Antioksidan enzimlerin aktivitesi, ksenobiyotiklerin uygulama süresi ve derişiminin yanı sıra türlerin hassasiyetine bağlı olarak da artış veya azalma gösterebilir. Ksenobiyotiklerin oluşturduğu antioksidan aktivitede artış olması genel bir kural olmamaktadır [Oruç ve Usta 2007]. *C. carpio*'da fenthionun oksidatif stres üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, beyin SOD ve CAT aktivitelerinde kontrole göre değişim olmadığı bildirilmiştir [Üner vd., 2009]. Bununla birlikte Hai vd. 1997 yaptıkları bir çalışmada, *C. carpio* ve *Ictalurus nebulosus*'da dichlorvos etkisinde karaciğer SOD ve CAT aktivitelerinin artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, bu artışın pestisit etkisiyle, oluşan reaktif oksijen metabolitlerinin artışı sonucu olduğu şeklinde açıklama yapmışlardır (Hai vd. 1997).

GPx, GSH'ın oksidasyonu yoluyla H_2O_2 'nin H_2O 'ya indirgenmesini katalizleyen enzimdir. Enzim, hayvan dokularında yaygın olarak bulunmaktadır ve

hidrojen donörü olarak GSH'a spesifiktir. Bununla birlikte, H₂O₂'den başka diğer peroksitlere de etki etmektedir. Linolenik ve linoleik asit peroksidasyon ürünleri gibi yağ asidi hidroperoksitlerinin, düşük oranlarda kolesterol 7 β -hidroperoksit ve bunun yanında in vitro çalışmalarda enzim aktivitesini ölçmek üzere sıklıkla kullanılan t-butil ve kümen hidroperoksitler gibi sentetik hidroperoksitlerin de GSH-bağımlı indirgenmelerini katalizlemektedir [Halliwell ve Gutteridge, 1999]. GPx'ler oksidatif strese karşı savunmada önemli rol oynamaktadırlar [Cnubben vd., 2001].

Bu çalışmada CPF etkisine maruz kalan *C. carpio*'da karaciğer dokusu GPx enzim aktivitesinde kontrole göre önemli oranda artışlar belirlenmiştir. Günlere göre en önemli artışın dördüncü gün gerçekleştiği saptanmıştır. Bu çalışmada GPx aktivitesinde tüm sürelerde CAT aktivitesine göre daha fazla artışlar görülmüştür. En yüksek artışın görüldüğü 4. gün 0.13 mg/L CPF grubunda CAT aktivitesi kontrol grubuna yakın iken, GPx aktivitesinin kontrol grubundan % 150 artış gösterdiği saptanmıştır. Onuncu gün ise tam tersi bir şekilde GPx aktivitesi kontrole yakın bulunurken, CAT aktivitesinde artış belirlenmiştir. GPx spesifik aktivitesinin, artan CAT enzim aktivitesi nedeniyle substrat yarışması sonucu azalmış olabileceği ileri sürülmüştür [Durmaz vd., 2006].

2,4-diklorofenol etkisinde *C. auratus*'da karaciğer GPx aktivitesinin arttığı belirlenmiştir. Bu artışın GPx'in CAT'a oranla H₂O₂'in detoksifikasyonunda daha etkili bir antioksidan enzim olmasından kaynaklanabileceği belirtilmiştir [Zhang ve ark., 2005]. GPx enzim aktivitesindeki artış, oksidatif stres durumuna karşı koyma mekanizmasında izlenen adaptasyon olarak açıklanmıştır [Banerjee vd., 1999; Demir vd., 2011]. Bu çalışmada GPx aktivitesinde gözlenen artışın oksidatif stresten kaynaklanan lipid hidroperoksitlerini detoksifiye etme amaçlı [Banerjee vd., 1999] olduğu düşünülmektedir.

LPO çok iyi tanımlanmış bir hücresel hasar mekanizması olup doku ve hücrelerde oksidatif stresin bir indikatörü olarak kullanılmaktadır [Dorval vd., 2003]. LPO membran fosfolipidlerindeki doymamış yağ asitlerinin oksijen ile reaksiyona girerek, lipid hidroperoksitlerini oluşturmalarındaki olaylar dizisidir. Bir dizi

reaksiyon sonucu MDA, bazı aldehitler, konjuge dienler, uçucu hidrokarbonlar gibi ürünler ortaya çıkmaktadır. LPO göstergesini oluşturan peroksidasyon ürünlerinden MDA'nın ölçümü, tiyobarbütirik asit ile reaksiyon sonucu yapılmaktadır [Slater, 1984; Sushil, 1989].

Serbest radikallerin lipid moleküllerine verdiği zararın en yaygın gösterimi, LPO'un en önemli ürünü olan MDA'dır. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda MDA meydana gelir. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açarak, iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimine neden olabilmektedir [Hagihara vd., 1984]. OP bileşikler, organizmalardaki biyotransformasyonları sırasında O₂⁻ grupları açığa çıkarmaktadırlar. Açığa çıkan bu gruplar, hücre zarı fosfolipidlerinde LPO ve sonuçta hücre hasarına neden olmaktadır [Altuntaş vd., 2003b; Mercan, 2004].

Bu çalışmada karaciğer dokusunda ölçülen MDA düzeylerinde; CPF subletal derişim gruplarında kontrole göre birinci gün herhangi bir farklılık gözlenmezken, denemenin diğer günlerinde artış ve azalmalar kaydedilmiştir. En önemli artışlar denemenin dördüncü günü 0.26 mg/L ve 0.52 mg/L CPF gruplarında saptanmıştır. Cypermethrin etkisinde *C. carpio* ve *O. niloticus*'da karaciğer ve böbrek dokusu MDA düzeyinde artış meydana geldiği bildirilmiştir [Üner vd., 2001]. Ballesteros vd., [2009] *Jenynsia multidentata*'da endosülfan etkisinde karaciğer, beyin, kas ve solungaç dokularında LPO düzeyinin önemli oranda artış gösterdiğini bildirmişlerdir. *O. mykiss*'te metil parathion ve diazinonun 24, 48 ve 72 saat süreyle solungaç, karaciğer ve kas dokularında antioksidan enzim aktivitelerine etkileri incelendiği çalışmada, MDA miktarında ve antioksidan enzim aktivitelerinde derişim ve süreye bağlı olarak artma ve azalma şeklinde etkileşimler gözlenmiştir [Işık ve Çelik, 2008]. Organofosforlu CPF etkisinde *C. carpio* karaciğer dokusunda MDA miktarında süreye göre meydana gelen artış ve değişimlerin, antioksidan enzim aktiviteleriyle aralarındaki ilişkiye bağlı olduğu benzer çalışmalarda da bildirilmiştir [Oruç ve Usta 2007; Hernandez-Moreno vd., 2010; Moraes vd., 2011]. Ashakumary ve Vijayammal, [1996 a] ve Baskaran vd., [1999], LPO ürünlerindeki artışın, SOD ve

CAT gibi antioksidan enzim aktivitelerindeki azalma ile ilişkili olabileceği şekilde açıklama yapmışlardır. CAT ve SOD aktivitelerindeki azalma, süperoksit ve peroksit radikallerinin birikimine neden olarak hidroksil radikalının üretimi sonucunda LPO'yu arttırabilmektedir [Ashakumary ve Vijayammal, 1996 b].

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada *C. carpio* için CPF'nin 96 saatlik LC₅₀ değeri 2.08 mg/L olarak tespit edilmiştir. Deney süresince gözlenen davranış değişiklikleri, kontrole göre genel aktivitede azalma, denge kaybı, düzensiz yüzmeye ve suyun orta kısmında uzun süre hareketsiz kalma gibi tipik nörotoksik özellikte olduğu görülmüştür.

CPF subletal derişimlerinin deney balıklarının davranış ve morfolojileri üzerine etkileri incelendiğinde kuyruk omur eğriliği saptanmıştır. Bu durumun CPF'nin nörotoksik etkisinden dolayı oluştuğu düşünülmektedir. İleride CPF üzerine yapılacak çalışmalarda konunun AChE aktivitesiyle desteklenmesi faydalı olacaktır.

CPF subletal ortam derişimleri etkisinde *C. carpio* karaciğer dokusu CAT, SOD ve GPx enzim aktivitelerinde ve LPO ürünlerinde süreye ve derişime bağlı olarak derişimler meydana gelmiştir. Bu veriler, organofosfatlı insektisit olan CPF'nin *C. carpio*'da oksidatif strese neden olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmadan elde edilen veriler, günümüzde tarım alanlarında yaygın olarak kullanılan CPF'nin akut toksisitesinin oldukça yüksek olduğunu, insektisitlerin kullanımının kontrol altına alınması gerektiğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Abdollahi, M., Mostafalou, S., Pournourmohammadi, S. and Shadnia, S. “Oxidative stress and cholinesterase inhibition in saliva and plasma of rats following subchronic exposure to malathion”, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 137: 29-34, (2004).
- Aebi, H. “Catalase. In: Bergmayer HU (ed) *Methods of enzymatic analysis*”, Academic Press, New York, pp 671-684, (1974).
- Ahmad, I., Hamid, T., Fatima, M., Chand, H. S., Jain, S. K., Athar, M. and Raisuddin, S., “Induction of hepatic antioxidant in freshwater catfish (*Channa punctatus* Bloch) is a biomarker of paper mill effluent exposure”, *Biochemical et Biophysica Acta*, 1523: 37-48, (2000).
- Altuntaş, I., Delibaş, N., Demirci, M., Kilinc, I. and Tamer, N. “The effects of methidathion on lipid peroxidation and some liver enzymes: Role of Vitamines E and C”, *Arch Toxicol*, 76: 470-473, (2003)a.
- Altuntaş, İ., Delibaş, N., Doguç, D.K., Özmen, S. and Gültekin, F. “Role of reactive oxygen species in organophosphate insecticide phosalone toxicity in erythrocytes *in vitro*”, *Toxicology in Vitro*, 17: 153-157, (2003)b.
- Alves, S. R. C., Severino, P. C. and Ibbotson, D. P. “Effects of furadanin the brown mussel *Perna perna* and in the man grove oyster *Crassostrea rhizophorae*”, *Marine Environmental Research*, 54, 1-5, (2002).
- Aniladevi Kunjamma, K. P., Philip, B., Smitha, V., Bhanu, S. V. and Jose, J. “Histopathological effects on *Oreochromis mossambicus* (Tilapia) exposed to chlorpyrifos”, *Journal of Environmental Research and Development*, 2(4): 553-559, (2008).
- Anonim., “Endüstriyel sıvı atıklar ve atıksular-akut zehirlilik deneyleri-canlılık deney metodları”, TS 8264, (1990).
- Ansari, R. A. , Rahman, S., Kaur, M. , Anjum, S. , Raisuddin, S. “*In vivo* cytogenetic and oxidative stress-inducing effects of cypermethrin in freshwater fish, *Channa punctata* Bloch”, *Ecotoxicology and Environmental Safety* , 74: 150-156, (2011).
- Ashakumary, L. and Vijayammal, P. L. “Effect of nicotine on antioxidant defence mechanisms in rats fed a high-fat diet”, *Pharmacology*, 52(3): 153-58, (1996)a.
- Ashakumary, L. and Vijayammal, P. L. “Additive effect of alcohol and nicotine on lipid peroxidation and antioxidant defence mechanism in rats”, *Journal of Applied Toxicology*, 6:305.08, (1996)b.

- Aydemir, T. and Kuru, K., “Purification and partial characterization of catalase from chicken erythrocytes and the effect of various inhibitors on enzyme activity”, Turkish Journal of Chemistry, 27, 1, 85-97, (2003).
- Aydın, R. and Köprücü, K. “Acute toxicity of diazinon on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae”, Pesticide Biochemistry and Physiology, 82: 220-225, (2005).
- Ballesteros, M.L., Wunderlin, D.A. and Bistoni, M.A. “Oxidative stress responses in different organs of *Jenynsia multidentata* exposed to Endosulfan”, Ecotoxicology and Environmental Safety, 72, pp. 199-205, (2009).
- Banerjee, B. D., Seth, V., Bhattacharya, A., Pasha, S. T. and Chakraborty, A. K. “Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers”, Toxicology Letters, 107: 33-47, (1999).
- Barbieri, E. and Ferreira, L. A. A. “Effects of the organophosphate pesticide Folidol 600® on the freshwater fish, Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)”, Pesticide Biochemistry and Physiology, 99: 3, 209-214, (2011).
- Baskaran, S., Lakshmi, S. and Prasad, P. R., “Effect of cigarette smoke on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in albino rat”, Indian Journal of Experimental Biology, 37(12): 1196-1200, (1999).
- Chandrasekara, L. W. H. U. and Pathiratne, A. “Body size-related differences in the inhibition of brain acetylcholinesterase activity in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by chlorpyrifos and carbosulfan”, Ecotoxicology and Environmental Safety, 67: 109-119, (2007).
- Chaudiere, J. and Ferrai-Iliou, R., “Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanism”, Food and Chemical Toxicology, 37: 949-962, (1999).
- Cnubben, N. H. P., Rietjens, I. M. C. M., Wortelboer, H., van Zanden, J. and van Bladeren, P. J., “The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense”, Environmental Toxicology and Pharmacology, 10: 141- 152, (2001).
- Craig, P. M., Chris, M., Wood, C. M. and McClelland, G. B., “Oxidative stress response and gene expression with acute copper exposure in zebrafish (*Danio rerio*) ”, American Journal Physiology Regula Integrative and Comparative Physiology, 293:1882–1892, (2007).
- Çimen, Ç., Öter, Ç., Demir, H. ve Savran, A., “Rat eritrositlerinden elde edilen katalaz enziminin karakterizasyonu ve kinetiğinin incelenmesi”, Yüzüncü

Yıl Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 16, 1, 15-20, (2005).

- Dalvi, R. R. and Davis, S. W. "Role of β -naphthoflavone in the acute toxicity of chlorpyrifos in channel catfish", *Bulletin of Environmental Contamination Toxicology*, 60: 335-339, (1998).
- Daoud, A., Nagpure, N. S., Kumar, S., Kumar, R. and Kushwaha, B., "Genotoxicity assessment of acute exposure of chlorpyrifos to freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch) using micronucleus assay and alkaline single-cell gel electrophoresis", *Chemosphere*, 71: 1823-1831, (2008).
- Datta, C., Gupta, J., Sarkar, A. and Sengupta, D. "Effects of organophosphorus insecticide phosphomidon on antioxidant defence components of human erythrocyte and plasma", *Indian Journal of Experimental Biology*, 30(1) : 65-67, (1992).
- De Mel, G. W. J. L. M. V. T. M., Pathiratne, A. "Toxicity assessment of insecticides commonly used in rice pest management to the fry of common carp, *Cyprinus carpio*, a food fish culturable in rice fields", *Journal of Applied Ichthyology*, 21: 146-150, (2005).
- Dembele, K., Haubruge, E. and Gaspar, C. "Concentration effects of selected insecticides on brain acetylcholinesterase in the common carp (*Cyprinus carpio* L.)", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 45, 49-54, (2000).
- Demir, F. Uzun, F. G., Durak, D. and Kalender, Y. "Subacute chlorpyrifos-induced oxidative stress in rat erythrocytes and the protective effects of catechin and quercetin" *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99: 1, 77-81, (2011).
- Dorval, J., Leblond, V. S. and Hontela, A. "Oxidative stress and loss of cortisol secretion in adrenocortical cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed in vitro to endosulfan, an organochlorine pesticide", *Aquatic Toxicology*, 63: 229-241, (2003).
- Doyotte, A., Cossu, C., Jacqun, M. C., Babut, M. and Vasseur, P. "Antioxidant enzymes, glutathione and lipid peroxidation as relevant biomarkers of experimental or field exposure in the gills and digestive gland of freshwater bivalve *Unio tumidus*", *Aquatic Toxicology*, 39: 93-110, (1997).
- Durmaz, H., Sevgiler, Y. and Üner, N. "Tissue specific antioxidative and neurotoxic responses to diazinon in *Oreochromis niloticus*", *Pesticide Biochemistry and Physiology* 84: 215-226, (2006).
- Dwivedi, P. D., Das, M. and Khanna, S. K. "Role of cytochrome P-450 Quinalphos Toxicity: Effects on hepatic and brain anti-oxidant enzymes in rats", *Food and Chemical Toxicology*, 36(5) 437-444, (1998).

- Finney, P. J. Probit analysis. 3rd edition, 333 pp”, Cambridge University Press, Cambridge, (1971).
- Fulton, M. H. and Key, P. B. “Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects”, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 37-45, (2001).
- Garcia-Medina, S., Razo-Estrada, A. C., Gomez-Oliva'n, L. M., Amaya-Chavez, A., Madrigal-Bujaidar, E. and Galar-Martínez, M., “Aluminum-induced oxidative stress in lymphocytes of common carp (*Cyprinus carpio*)”, *Fish Physiology and Biochemistry*, 36:875-882, (2010).
- Giron-Perez, M. I., Barcelos-Garcia, R., Vidal-Chavez, Z. G., Romero-Banuelos, C. A. and Robledo-Marenco, M. L. “Effect of chlorpyrifos on the hematology and phagocytic activity of Nile Tilapia Cells (*Oreochromis niloticus*) ”, *Toxicology Mechanisms and Methods*, 16: 9 ,495-499, (2006).
- Hagihara, M., Nishigaki, I., Maseki, M. and Yagi, K. “Age dependent changes in lipid peroxide levels in the lipoprotein fractions of human serum”, *The Journal of Gerontology*, 39: 269-272, (1984).
- Hai, D. Q., Varga S. I., Varga, and Matkovics, B. “Organophosphorus effects on antioxidant system of carp (*Cyprinus carpio*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*)”, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 117 83-88, (1997).
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. “Free radicals in biology and medicine”, Oxford Universty Press, London, s. 36-245, (1999).
- Hernandez-Moreno, D., Soler, F., Míguez, M. P. and Pérez-López, M. “Brain acetylcholinesterase, malondialdehyde and reduced glutathione as biomarkers of continuou s exposure of tench, *Tinca tinca*, to carbofuran or deltamethrin”, *Science of the Total Environment*, 408, 4976-4983, (2010).
- <http://www.fishbase.org/Summary/speciesSummary.php?ID=1450&genusname=Cyprinus&speciesname=carpio+carpio>.
- Intorre, L., Soldani, G., Cognetti-Varriale, A. M., Monni, G., Meucci, V. and Pretti, C. “ Safety of azamethiphos in eel, sea bass and trout”, *Pharmacological Research*, 49: 171-176, (2004).
- Isik, I. and Celik, I. “Acute effects of methyl parathion and diazinon as inducers for oxidative stress on certain biomarkers in various tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)”, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 92: 38-42, (2008).
- Jason, F. H., Hollensworth, S. B., Spitz, D.R., Copeland, W. C., Wilson, G. L. and Le Doux, S. P. “Oxidative stress-induced apoptosis in neurons correlates

with mitochondrial DNA base excision repair pathway imbalance”, *Nucleic Acids Research*, 33(14): 4660-4671, (2005).

Jocelyn, P. C. *Biochem. J.* 117, 947, (1970).

Kale, M., Rathore, N., John, S. and Bhatnagar, D. “Lipid peroxidative damage on pyrethroid exposure and alteration in antioxidant status in rat erythrocytes: a possible involvement of reactive oxygen species”, *Toxicology Letters*, 105, 197-205, (1999).

Kammerbauer, J. and Moncada, J. “Pesticide residue assessment in three selected agricultural production systems in the Choluteca River Basin of Honduras”, *Environmental Pollution*, 103, 171-181, (1998).

Karen, D. J., Joab, B. M., Wallin, J. M. and Johnson, K. A. “Partitioning of chlorpyrifos between water and an aquatic macrophyte (*Elodea densa*)”, *Chemosphere* 37, 1579-1586, (1998).

Kavitha, P. and Venkateswara R. J. “Oxidative stress and locomotor behaviour response as biomarkers for assessing recovery status of mosquito fish, *Gambusia affinis* after lethal effect of an organophosphate pesticide, monocrotophos”, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 87: 182-188, (2007).

Kidd, H. and James, D. R. “The agrochemicals handbook. Royal Society of Chemistry Information Services”, Cambridge, UK, (1991).

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. “Protein measurement with Folin Phenol reagent”, *The Journal of Biological Chemistry*, 193:265-275, (1951).

Malla, F.A., Sharma, G. and Singh, S. “Chlorpyrifos pesticide toxicity on erythrocyte sedimentation rate in fish, *Channa punctatus* (Bloch.)”, *Toxeminar-1 Biology and Medicine Journal*, 1: 54-55, (2009).

Mehta, A., Verma, R. S. and Srivastava, N. “Chlorpyrifos induced alterations in the levels of hydrogen peroxide, nitrate and nitrite in rat brain and liver”, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 94:55-59, (2009).

Mercan, U. “Toksikolojide serbest radikallerin önemi”, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 15: 91-96, (2004).

Monteiro, D. A., Almeida, J. A., Rantin, F. T. and Kalinin, A.L. “Oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish, *Brycon cephalus*, exposed to organophosphorus insecticide Folisuper 600 (methyl parathion)”, *Comparative Biochemistry and Physiology*, C 143: 141-149, (2006).

- Moraes, B. S., Clasen, B., Loro, V. L., Pretto A., Toni, C., Avila, L. A., Marchesan, E., Machado, S. L. O., Zanella, R. and Reimche, G. B. "Toxicological responses of *Cyprinus carpio* after exposure to a commercial herbicide containing imazethapy and dimazapic", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74, 328-335, (2011).
- Ohkava, H., Ohisini, N. and Tagi, K. "Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction", *Analytical Chemistry*, 95: 351-358, (1979).
- Oruç, E. Ö. and Üner, N. "Combined effects of 2,4-D and azinphosmethyl on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in liver of *Oreochromis niloticus*", *Comparative Biochemistry and Physiology*, 127C: 291-296, (2000).
- Oruç, E. Ö., Sevgiler, Y. and Üner, N. "Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2,4-D and azinphosmethyl", *Comparative Biochemistry and Physiology*, 137C: 43-51, (2004).
- Oruç, E. Ö. and Usta, D. "Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*", *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 23: 48-55, (2007).
- Oruç, E. Ö. "Oxidative stress, steroid hormone concentrations and acetylcholinesterase activity in *Oreochromis niloticus* exposed to chlorpyrifos", *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 96: 3, 160-166, (2010).
- Öncü, M., Gultekin, F., Karaöz, E., Altuntaş, İ. ve Delibaş, N. "Klorprifos-etil tarafından oluşturulan oksidatif hasarın sıçan karaciğerine etkileri", *Türk Klin J Med Sci*, 22, 50-55, (2002).
- Pandey, S., Parvez, S., Sayeed, I., Haquer, R., Bin-Hafeez, B. and Raisuddin, S. "Biomarkers of oxidative stress: a comparative study of river Yamunafish *Wallago attu* (Bl. Schn)", *Science of the Total Environment*, 309:105-115, (2003).
- Parves, S. and Rasiuddin, S. "Copper modulates non enzymatic antioxidant in the freshwater fish *Channa punctata* (Bloch) exposed to deltamethrin", *Chemosphere* 68: 1324-1332, (2006).
- Peixoto, F., Alves-Fernandes, D., Santos, D. and Fontainhas-Fernandes, A. "Toxicological effects of oxyfluorfen on oxidative stress enzymes in tilapia *Oreochromis niloticus*", *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 85, 91-96, (2006).
- Radhey, S. V., Mehta, A. and Srivastava, N. "In vivo chlorpyrifos induced oxidative stress: Attenuation by antioxidant vitamins", *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88:191-196, (2007).

- Ramesh, M. and Saravanan M. “Haematological and biochemical responses in a freshwater fish *Cyprinus carpio* exposed to chlorpyrifos”, *International Journal of Integrative Biology*, 3:1-80, (2008).
- Reed, D. J. “Mechanisms of chemically induced cell injury and cellular protection mechanisms”, *Introduction to biochemical toxicology*. Wiley-Interscience, New York, Third edition. 697 s, (2001).
- Ritola, O., Livingstone, D. R., Peters, L. D. and Lindstrom-Seppa, P. “Antioxidant processes are affected in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to ozone and oxygen-supersaturated water”, *Aquaculture* 210, 1–19, (2002).
- Sandahl, J. F., Baldwin, D. H., Jenkins, J. J. and Scholz, N. L. “Comparative thresholds for acetylcholinesterase inhibition and behavioral impairment in coho salmon exposed to chlorpyrifos”, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24: 1, 136–145, (2005).
- Sayeed, I., Parvez, S., Pandey, S., Bin-Hafeez, B., Haque R. and Rausiddin S. “Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56: 295–301, (2003).
- Selvi, M., Sarıkaya, R. and Erkoç, F. “Acute behavioral changes in the guppy (*Poecilia reticulata*) exposed to temephos”, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 17(4): 15-19, (2004).
- Sharbidre, A. A., Metkari, V. and P. Patode, P. “Effect of diazinon on acetylcholinesterase activity and lipid peroxidation of *Poecilia reticulata*”, *Research Journal of Environmental Toxicology*, 5: 152-161, (2011).
- Singh, R. N., Pandey, R. K., Singh, N. N. and Das, V. K. “Acute toxicity and behavioral responses of common carp *Cyprinus carpio* (Linn.) to an organophosphate (Dimethoate)”, *World Journal of Zoology*, 4(2): 70-75, (2009).
- Slater, T. F. “Overview of methods used for detecting lipid peroxidation”, *Methods in Enzymology*, 105: 283-305, (1984).
- Song, S. B., Xu, Y. and Zhou, B. S. “Effects of hexachlorobenzene on antioxidant status of liver and brain of common carp (*Cyprinus carpio*)”, *Chemosphere* 65:699-706, (2006).
- Spiteller, G., “Peroxidation of linoleic acid and its relation to aging and age dependent diseases”, *Mechanisms of Ageing and Development*, 122: 617-657, (2001).

- Stalin, S. I., Kiruba, S. and Das, S. S. M. “A Comparative study on the toxicity of a synthetic pyrethroid, deltamethrin and a Neem Based Pesticide, azadirachtin to *Poecilia reticulata*. Peters 1859 (*Cyprinodontiformes: Poeciliidae*)”, Turk Journal of Fisheries and Aquatic Sciences , 8: 01-05, (2008).
- Sun, Y., Oberley, L. W. and Ying, L. “A simple method for clinical assay of superoxide dismutase”, Clinical Chemistry, 34:497-500, (1988).
- Sun, Y., Yu, H., Zhang, J., Yin, Y., Shi, H. and Wang, X. “ Bioaccumulation, depuration and oxidative stress in fish *Carassius auratus* under phenanthrene exposure”. Chemosphere, 63: 1319-1327, (2006).
- Sun, F. and Chen, H.S. “Monitoring of pesticide chlorpyrifos residue in farmed fish: Investigation of possible sources” Chemosphere, 71:1866-1869, (2008).
- Sushil, J. K., Mcvie, R., Duett, J. and Herbst, J. J. “Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes”, Diabetes, 38: 1539-1543, (1989).
- Tilak, K. S., Veeraiyah, K. and Roa D. K. “Toxicity and bioaccumulation of chlorpyrifos in Indian Carp *Catla catla* (Hamilton), *Labeo rohita* (Hamilton), and *Cirrhinus mrigala* (Hamilton)”, Environmental Contamination Toxicology, 73:933-941, (2004).
- Thomas, J. M., Martins, N. D., Monteiro, D. A., Rantin, F. T. and Kalinin, A. L. “Cardio respiratory function and oxidative stress biomarkers in Nile tilapia exposed to the organophosphate insecticide trichlorfon”, Ecotoxicology and Environmental Safety, 72:5: 1413-1424, (2009).
- Toni, C., Loro, V. L., Santi, A., Cavalheiro de Menezes, C., Cattaneo, R., Clasen, B. E. and Zanella, R. “Exposure to tebuconazol in rice field and laboratory conditions induces oxidative stress in carp (*Cyprinus carpio*)”, Comparative Biochemistry and Physiology, 153: 128-132, (2011).
- Üner, N., Özcan Oruç, E. Canlı, M. and Sevgiler, Y. “Effects of cypermethrin on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in liver and kidney of the freshwater fish, *Oreochromis niloticus* and *Cyprinus carpio* (L.)”, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 67: 657-664, (2001).
- Üner, N., Sevgiler, Y., Durmaz, H. and Piner, P. “Çinkıoğlu, E., N-Acetylcysteine provides dose-dependent protection against fenthion toxicity in the brain of *Cyprinus carpio* L.”, Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology, July; 150 (1) : 33-8, (2009).

- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M. and Scoullou, M. “Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64: 178-189, (2006).
- Van der Oost, R., Beyer, J. and Vermeulen, N. P. “Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review”, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13:57-149, (2003).
- Vasylykiv, O. Y., Kubrak, O. I., Storey, K. B. and Lushchak, V. I. “Catalase activity as a potential vital biomarker of fish intoxication by the herbicide aminotriazole”, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 101: 1-5, (2011).
- Venkateswara, R. J., Ghousia, B., Pallela, R., Umsan, P. K. and Nageswara Rao, R., “Changes in behaviour and brain acetylcholinesterase activity in mosquito fish, *Gambusia affinis* in response to the sub-lethal exposure to chlorpyrifos”, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2: 478-483, (2005).
- Verep, B., Kaplan, F., Yörük, Y. ve Turan, D. “Karbaril'in tatlısu kefalı (*Leuciscus cephalus*) üzerine akut toksik etkisi”, *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, 3: 341-345, Trabzon, (2005).
- Yonar, M. E. and Sakin, F. “Ameliorative effect of lycopene on antioxidant status in *Cyprinus carpio* during pyrethroid deltamethrin exposure”, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99 226-231. (2011).
- Yu, F., Wang, Z., Ju, B., Wang, Y., Wang, J. and Bai, D. “Apoptotic effect of organophosphorus insecticide chlorpyrifos on mouse retina *in vivo* via oxidative stress and protection of combination of vitamins C and E”, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 59 : 6, 415-423, (2008).
- Winston, G. W. and Di Giulio, R. T. “Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms”, *Aquatic Toxicology*, 19: 137-161, (1991).
- Wu, H., Zhang, R., Liu, J., Guo, Y. and Ma, E. “Effects of malathion and chlorpyrifos on acetylcholinesterase and antioxidant defense system in *Oxya chinensis* (Thunberg) (Orthoptera: Acrididae)”, *Chemosphere*, 83 599-604, (2011).
- Zhang, J. F., Liub, H., Sun, Y. Y., Wang, X. R., Wu, J. C. and Xue, Y. Q., “Responses of the antioxidant defenses of the Goldfish *Carassius auratus*, exposed to 2,4-dichlorophenol”, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19: 185-190, (2005).
- Zwart, L. L. D., Meerman, J. H. N., Commandeur, J. N. M. and Vermeulen, N. P. E., “Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans”, *Free Radical Biology and Medicine*, 27: 202-226, (1999).

ÖZGEÇMİŞ VE ESERLER LİSTESİ

Adı Soyadı: Suna Gül GÜNDÜZ

Doğum Tarihi: 20/09/1977

Öğrenim Durumu:

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lise		Bartın Lisesi	1990-1993
Önlisans	Su Ürünleri	Mersin Üniversitesi	1996-1998
Lisans	Su Ürünleri	Mersin Üniversitesi	1998-2000
Yüksek Lisans	Su Ürünleri	Mersin Üniversitesi	2001-2005

(Varsa) Görevler:

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Arş. Gör.	Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi	2004-2012

ESERLER (Makaleler ve Bildiriler)

- Özkan, F., Gündüz, S. G., Berköz, M. and Özlüer Hunt, A. “Induction of micronuclei and other nuclear abnormalities in peripheral erythrocytes of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* following exposure to sublethal cadmium doses”, Turkish Journal of Zoology, 35 (4): 585-592, (2011).
- Özlüer Hunt, A., Berköz, M., Özkan, F., Yalın, S., Ercen, Z., Erdogan, E., Gündüz, S. G. “Effects of organic selenium on growth, muscle composition and antioxidant system in Rainbow Trout”, The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh, IIC:63, 562, (2011).
- Özkan, F., Gündüz, S. G., Berköz, M., Özlüer Hunt A. and Yalın, S. “Effect of dietary supplementation of vitamin C on level of protein carbonyl in liver and nuclear abnormalities in peripheral erythrocytes of *Oreochromis niloticus*”, Fresenius Environmental Bulletin, Volume 20 – No 6, (2011).

4. Özlüer Hunt, A., Berköz, M., Özkan, F., Yalın, S., Ercen, Z., Erdogan, E., Gündüz, S. G. "Effect of a mannan oligosaccharide on the growth performance, body composition and antioxidant enzyme activities of Tilapia (*Oreochromis niloticus*)", The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgah, IIC:63, 613, (2011).
5. Gündüz ,S.G., Gözü, B.B., Baştürk, Ö. "Triploit ve diploit alabalıkların vücut kompozisyonları arasındaki farklılıklar", Yunus Araştırma Bülteni, 2, 15-22, (2011).
6. Berköz, M., Hunt, A. O., Yalın, S., Ozkan, F., Gunduz, S. G. "Effect of Sel-Plex supplement on oxidative stress in *Oncorhynchus mykiss* rearing", International Symposium on Pharmaceutical Sciences, 23-26 June-2009, Ankara-Türkiye.
7. Gündüz, S.G., Ekingen, G. ve Ergene, S. "Cypermethrin'in Gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) üzerine genotoksik etkilerinin eritrosit mikronukleus testleriyle belirlenmesi", XIV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, Muğla, Bildiri/Poster Özetler Kitabı, s. 138, (2007).
8. Toku, T., Gündüz, S. G., Özkan, F. ve Özlüer, Hunt, A. "Mersin bölgesinde yakalanan bazı balık türlerinin üreme dönemi öncesinde fileto besin madde bileşenlerinin karşılaştırılması", XIV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, Muğla, Bildiri/Poster Özetler Kitabı, s. 465, (2007).
9. Gündüz, S. G., Gözü, B. B. ve Baştürk, Ö. "Triploit ve diploit alabalıkların vücut kompozisyonları arasındaki farklılıklar", I. Ulusal Alabalık Sempozyumu, Isparta, Bildiri/Poster Özetler Kitabı, s. 92, (2008).
10. Gündüz, S. G., Özkan, F., Baştürk, Ö. "Chlorpyrifos'un *Cyprinus carpio* (L., 1758) üzerine akut toksisitesi", XV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, Rize, (2009).

11. Gündüz, S. G., Kurt Kaya, G., Gözü, B. B. “Biyolojik istila ve Doğu Akdeniz’deki istilacı türler”, Türkiye’nin Kıyı ve Deniz Alanları VIII. Ulusal Kongresi, s. 605-613, Trabzon, (2010).
12. Gözü, B. B., Gündüz, S. G., Kurt Kaya, G. “Akgöl-Paradeniz lagünlerinin sucul biyolojik çeşitliliğinin önemi”, Türkiye’nin Kıyı ve Deniz Alanları VIII. Ulusal Kongresi, s. 625-632, Trabzon, (2010).
13. Kurt Kaya, G., Gözü, B. B., Gündüz, S. G. “Göksu Deltası’nın su ürünleri potansiyeli ve değerlendirilmesi”, Türkiye’nin Kıyı ve Deniz Alanları VIII. Ulusal Kongresi, s. 575-581, Trabzon, (2010).
14. Özkan, F., Gündüz, S. G., Özlüer Hunt, A., Duru, M. D. “*Cyprinus carpio*’da kurşunun subletal derişiminin serum protein ve glukoz düzeyi üzerine etkisi ve yeme eklenen organik selenyumun koruyuculuk özelliğinin araştırılması”, Çevre ve Toksikoloji sempozyumu, Mersin, (2010).
15. Özlüer Hunt, A., Gündüz, S. G., Özkan, F., Berköz, M., Çeliktaş, Ç., Korucu, F. “Mannan oligosakkarit (MOS) ilaveli yemlerle beslenen sazan (*Cyprinus carpio*)’larda büyüme, besin madde bileşenleri ve lizozim aktivitesi üzerine etkilerin araştırılması”, FABA 2011 Sempozyumu, Samsun, (2011).