

Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

Bu çalışma jürimiz tarafından Biyoloji Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Nevin Üner



Üye : Prof. Dr. Cahit Erdem

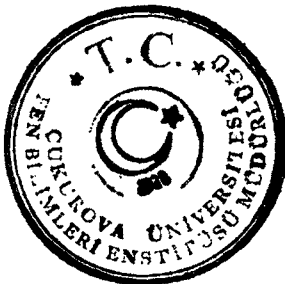


Üye : Yrd. Doç. Dr. Ferit Kargın



Kod no : 944

Yukarıda imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.



Prof. Dr. Ural Dinç

Enstitü Müdürü

***CYPRINUS CARPIO* (L)' DE AZINPHOSMETHYL'İN SOLUNGAÇ, BÖBREK, BEYİN
VE DALAK DOKULARINDA TOTAL PROTEİNİN KANTİTATİF DEĞİŞİMİNE
ETKİLERİ**

SAHİRE KARATAŞ

**Ç.Ü.
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ADANA
ŞUBAT - 1995**

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TABLO LİSTESİ.....	II
ŞEKİL LİSTESİ.....	III
ÖZ.....	IV
ABSTRACT.....	V
GİRİŞ.....	1
MATERYAL VE YÖNTEM.....	4
ARAŞTIRMA BULGULARI.....	8
TARTIŞMA.....	19
ÖZET.....	23
SUMMARY.....	24
KAYNAKLAR.....	25
TEŞEKKÜR.....	29
ÖZGEÇMİŞ.....	30
EK TABLOLAR.....	31

TABLO LİSTESİ

Sayfa

TABLO 1	<i>C. carpio</i>'da Azinphosmethyl ortam derişimi ve sürenin solungaçta protein miktarı (mg/g y. a.) üzerine etkileri.	
		9
TABLO 2	<i>C. carpio</i>'da Azinphosmethyl ortam derişimi ve sürenin böbrekte protein miktarı (mg/g y. a.) üzerine etkileri.	
		11
TABLO 3	<i>C. carpio</i>'da Azinphosmethyl ortam derişimi ve sürenin beyinde protein miktarı (mg/g y. a.) üzerine etkileri.	
		13
TABLO 4	<i>C. carpio</i>'da Azinphosmethyl ortam derişimi ve sürenin dalakta protein miktarı (mg/g y. a.) üzerine etkileri.	
		15

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1. Protein derişimi ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki.	6
Şekil 2. <i>C. carpio</i> 'da Azinphosmethyl etkisinde solungaçta kantitatif total protein değışimi	10
Şekil 3. <i>C. carpio</i> 'da Azinphosmethyl etkisinde böbrekte kantitatif total protein değışimi.	12
Şekil 4. <i>C. carpio</i> 'da Azinphosmethyl etkisinde beyinde kantitatif total protein değışimi.	14
Şekil 5. <i>C. carpio</i> 'da Azinphosmethyl etkisinde dalakta kantitatif total protein değışimi.	16

ÖZ

Bu çalışmada, organofosforlu insektisit Azinphosmethyl'in 0,20 ve 0,35 ppm derişimlerinin kültür balığı *Cyprinus carpio* (L)' de solungaç, böbrek, beyin ve dalak dokularında total protein düzeylerine etkileri 1, 2, 3, 4, 15 ve 30 gün sürelerle incelenmiştir.

Azinphosmethyl'in başlangıçta düşük derişimde tüm dokularda, yüksek derişimde ise dalak dışındaki dokularda protein miktarını azalttığı belirlenmiştir. İlerleyen süre içerisinde bu miktarın her iki derişimde dalgalanmalar göstererek, yüksek derişimde beyin dokusu dışındaki tüm dokularda kontrol düzeyine ulaştığı gözlenmiştir.

Pestisit stresinde besin alınamaması nedeniyle proteinlerin enerji ihtiyacını karşılamak üzere kullanılması, pestisitın enzim aktivitelerini inhibe ederek işlevsel aksaklıklar oluşturması veya incelenen dokularda histolojik deformasyonlar oluşturarak protein sentezinin engellendiğı ve bu nedenlerle de protein miktarında azalmalar görüldüğü düşünülmektedir. İlerleyen sürelerde balığın ortam şartlarına adaptasyon göstererek protein miktarını düzenlemeye çalıştığı tahmin edilmektedir.

ABSTRACT

Effects of 0.20 and 0.35 ppm concentrations of Azinphosmethyl, an organophosphated insecticide, on the protein levels in gill, kidney, brain and spleen tissues of the carp *Cyprinus carpio*, were investigated over 1, 2, 3, 4, 15 and 30 days of exposure.

The level of protein in the tissues studied decreased after exposure to 0.20 ppm concentration of the insecticide in the first days of exposure. At the 0.35 ppm concentration, tissue protein levels, with the exception of spleen, decreased at first days, fluctuated and reached to the control levels on prolonged exposures.

A number of factors might cause the observed decrease in the protein levels of the tissues which can be summarized as follows;

- Interruptions in the feeding behaviour of the animals under the effect of pesticide, hence using proteins as energy resources.
- Functional failure caused by the inhibition of enzymatic activity by the pesticide.
- Disturbtion of protein synthesis in the tissues by causing histological deformations.

On prolonged exposures fish might strive to level its protein level by adopting itself to the new environmental conditions.

GİRİŞ

Tarımsal ve endüstriyel alanda yaygın olarak kullanılan pestisitlerin, doğrudan ya da dolaylı yollarla su ortamına ulaşmaları akuatik ekosistemde kirliliği artırarak su organizmalarında yapısal ve işlevsel zararlara neden olmaktadır (Yaholami ve Perry, 1981; Rani ve ark., 1990). Uygulanan pestisitlerin selektif olmaması tatlı su faunası elemanlarından balıkları da etkilemektedir (Rao ve ark., 1985). Pestisitlerin etkileri pestisit yapısına ve canlının türüne göre değişim göstermektedir (Keizer ve ark., 1993).

Bu bileşikler balıklarda histopatolojik ve fizyolojik değişimlere neden olabilmekte ayrıca enzim aktivitelerini etkileyebilmektedirler (Radhaiah ve ark., 1987).

Pestisitlerin balıklarda letal ve subletal derişimlerinin belirlenmesi (Kozlovskaya ve Mayer, 1984), doku birikim düzeyleri (Janalik ve Wohlgemuth, 1986) ve ekotoksikolojik testlerde kullanımları (Bernhoft ve Skaare, 1994) ile ilgili çalışmalar yapılmıştır.

Diazinon'un kısa süreli subletal derişimlerinin *Brachydanlo rerio*'da *Poecilia reticulata*'ya oranla daha fazla biriktiği ve bu farklılığın transformasyon kapasitesinin türler arasındaki değişiminden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (Keizer ve ark., 1993).

Organofosforlu pestisitlerin etkisinde organizmalarda çok çeşitli histolojik lezyonlara rastlanmıştır. Dimethyl ve diethyl fosfat pestisitlerinin mutajenik ve karsinojenik olduğu açıklanmış, Dichlorvos ile yapılan *in vitro* çalışmalarda da benzer etkiler saptanmıştır (WHO, 69, 1986).

Ictalurus punctatus ve *Salmo trutta*'da Lindan uygulamalarının hipoksiya nedeniyle solungaç, karaciğer, böbrek ve dalakta hemoraji, hiperplazi, hipertrofi gibi nekrozlara ve hiperanemiye neden olduğu gözlenmiştir (Scott ve Rogers, 1980).

Diazinon, Methyl Parathion ve Dimethoate etkisinde *Channa punctatus*'ta kronik subletal uygulamaların karaciğer hepatositlerinde vakuolasyon, hepatik kanlanma, granülasyon ve sitoplazmik inklüzyonlar oluşturduğu gösterilmiştir (Anees, 1978).

Organoklorlu insektisit Endosülfan'ın *Channa gachua* ve *Heteropneustes fossilis* 'de böbrek, karaciğer ve testislerin ince yapılarında çeşitli hasarlar yaptığı ve ince barsak duyarlılığında ve mitokondrial enerjide azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Thomas ve Murthy, 1976; Sharma, 1990).

Phosphamidon, Endosülfan ve Aldicarb'ın *Puntius conchonius* erginlerinde başlangıçta solunumun güçlüğü, denge bozukluğu ve hareketlerde yavaşlamaya neden olduğu, sonraki aşamalarda ise reflekslerin azalarak balığın öldüğü görülmüştür (Gill ve ark., 1991a). Malathion ve Methyl Parathion ile yapılan benzer çalışmalarda *Lepistes retikularis* (Ranke-Rybicke, 1975) ve *Tilapia mossambica* (Peters)'de (Rao ve ark., 1985) solungaç epitellerinin parçalanarak solunumunun % 65 oranında inhibe edildiği saptanmıştır.

H. fossilis dişlerinde Malathion ve γ -BHC etkisinde lipid metabolizmasının değiştiği, vitellogenin ve seks hormonu ajanlarının engellenerek döllenmenin önlenildiği görülmüştür (Singh, 1992). Aynı türde Malathion ile yapılan bir çalışmada da hemotokrit ve hemogloblin miktarları düşerken kanda hiperkoagülasyon gözleendiği, eritropenia ve lökopenia ile birlikte geliştiği, homeostatik ve hemostatik mekanizmalarda bozulmaların ortaya çıktığı bildirilmiştir (Mishra ve Srivastava, 1983).

Carbofuran ve Phenthoate insektisitlerinin *Anabas testudineus* ve *C. punctataus* 'da beyin asetilkolin esterase aktivitesini inhibe ederek sinirsel fonksiyonları bozduğu ve bu nedenle fizyolojik fonksiyonların devamını engellediği belirtilmiştir (Bhattacharya, 1985).

Notopterus notopterus'da Methyl Parathion etkisinde, yumurtalık ve hepatik dokularda protein, lipid, kolesterol ve glikojen miktarları azalmıştır (Patil ve Kulkarni, 1993).

Channa striatus 'da Metasystox etkisinde solungaç, beyin, kas, karaciğer ve böbrek dokularında laktik dehidrojenaz enzim aktivitesinin azaldığı, lökosit miktarında bir düşüş olmasına karşın eritrosit miktarının arttığı gözlenmiştir (Natarajan, 1984).

Malathion'un *Cyprinus carpio* 'da protein sentezini etkileyerek karaciğer dokusunda hipoproteinemiyaya neden olduğu belirlenmiştir (Reddy ve Phillip, 1991).

Endosülfan etkisinde *C. punctatus*'da kanda glukoz ve protein düzeylerinin düştüğü buna karşın laktik asit ve hemoglobin miktarlarının yükseldiği saptanmıştır (Sastry ve Siddiqui, 1983).

Benzen Hekza Chlorid'in akut uygulamaları *C. punctatus* dokularında yapısal ve çözünen proteinlerin azalmasına neden olurken proteaz aktivitesini artırarak amino asit düzeyini yükseltmiştir (Geetanjali, 1988, Reddy ve ark., 1991'den).

Organofosforlu insektisitlerle *in vitro* çalışmalarda, *Lepomis microchinus*'un karaciğer mitokondrilerinde maksimum oksijen alınımının inhibe edildiği gösterilmiştir (Hiltbran, 1974). Aynı insektisit grubundan Azinphosmethyl'in fare karaciğerinde granüllü endoplazmik retikulumun işlevini bozduğu ve protein sentezinde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Özata ve Atalay, 1986).

Solunum ve osmoregülasyonu düzenleyen ve suda çözünen maddelerin başlıca giriş yolunu oluşturan solungaç (Heath, 1987); homeostasisi sağlayan, yabancı maddelerin atılımını düzenleyen böbrek; alyuvarların üretildiği dalak ve canlının tüm metabolik fonksiyonlarını kontrol eden beyin gibi organların önemli bileşenleri olan proteinlerde pestisit etkisi ile meydana gelen değişimlerin işlevsel etkilerinin aydınlatılabilmesi için balıklarda biyokimyasal çalışmalara gereksinim vardır.

Balıklarda pestisit etkilerinin incelenmesi, balık metabolizmasının araştırılması yanında pestisitlerin besin zinciri aracılığıyla artan oranlarda insana kadar ulaşması nedeniyle, insan sağlığı açısından da önem taşımaktadır (Kupchella ve Hyland, 1989).

Bu çalışmada, su ortamına ulaşan pestisit kalıntılarının besin zincirinde birikerek akuatik biyota içinde tehlike oluşturmaları nedeniyle tatlı su balıkları üzerindeki biyokimyasal etkilerini ortaya çıkartmak üzere organofosforlu insektisit Azinphosmethyl'in kültür balığı *C. carpio*'da solungaç, böbrek, beyin ve dalak dokularında protein miktarlarına etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırma materyali olan *C. carpio*, Devlet Su İşleri 6. Bölge Müdürlüğü'nün su ürünleri yetiştirme havuzlarından laboratuvara alınıp, 3 ay süre ile 160x40x40 cm boyutlarındaki stok akvaryumlar içerisinde beslenerek, gelişimleri ve laboratuvar koşullarına adaptasyonları sağlanmıştır. Balıklar bu süre içerisinde 11.29 ± 0.7 cm boy ve 10.50 ± 0.65 g ağırlığa ulaşmışlardır. Deneylerin yürütüldüğü laboratuvar $22 \pm 2^\circ\text{C}$ durağan sıcaklıkta olup, 8 saatlik aydınlanma periyodu uygulanmıştır. Gerek stok akvaryumlarında gerekse deney akvaryumlarında havalandırma, merkezi havalandırma sistemi ile sağlanmış ve balıklar günde iki kez, birey başına yaklaşık 25 mg hazır balık yemi ile beslenmiştir.

Deneyler süresince ortamın bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri aşağıdaki şekilde saptanmıştır;

Sıcaklık	:	$22 \pm 2^\circ\text{C}$	
Total sertlik	:	230 ± 0.75 ppm CaCO_3	
Alkalinite	:	326 ± 0.50 ppm CaCO_3	
pH	:	8.19 ± 0.06	
Çözünmüş oksijen	:	7.02 ± 0.27	mg/L

Pestisit olarak organofosforlu bir insektisit olan Guthion EC 20 S - { (3,4 - dihydro - 4 - oxobenzo [d] [1, 2, 3] triazin - 3 - ylmethyl) O - dimethyl phosphorodithioate, Bayer, Azinphosmethyl, 230 g/L } kullanılmıştır.

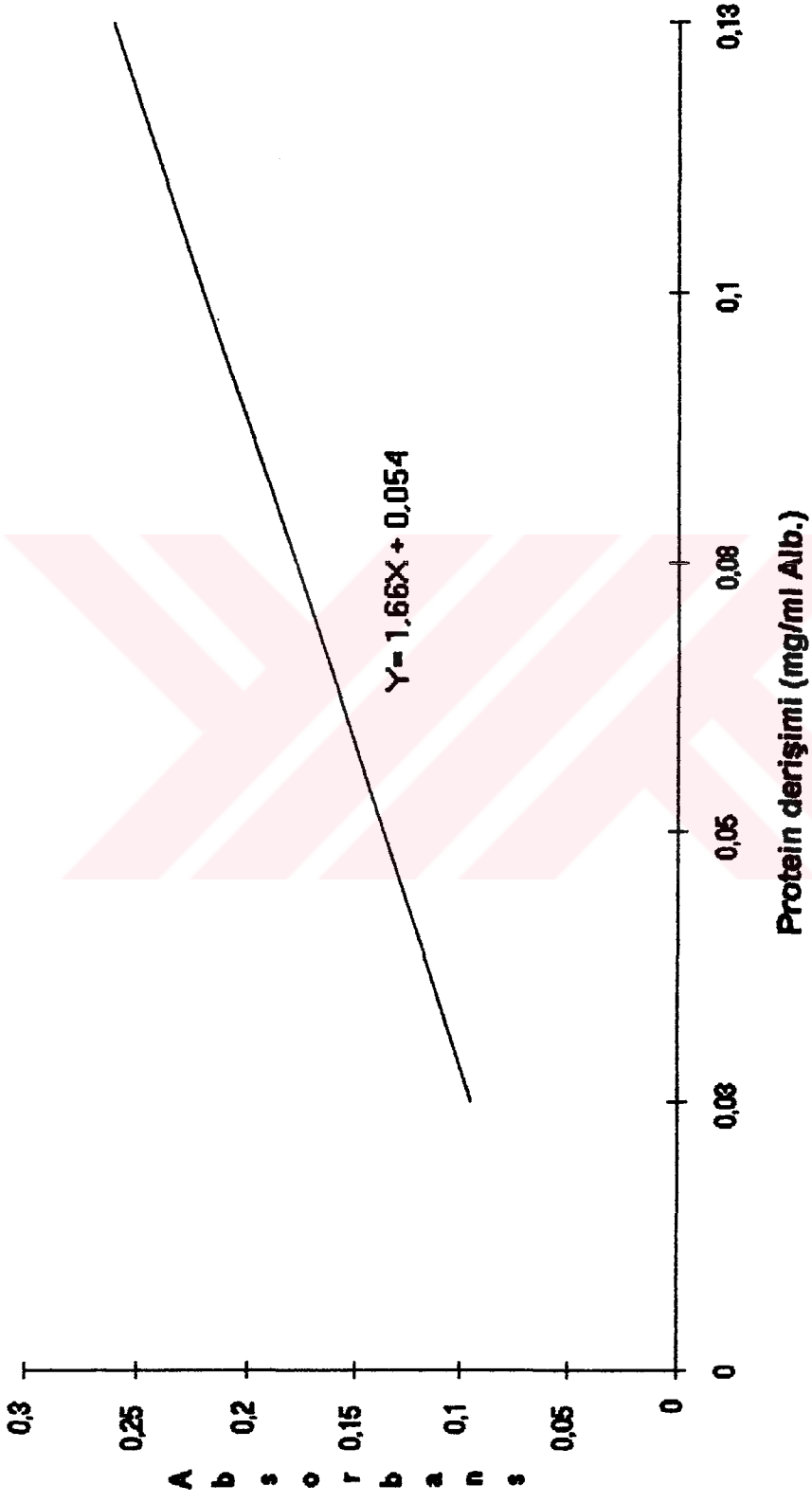
Denemelerde 100x40x40 cm boyutlarında ve herbirinde 6 balık bulunan üç cam akvaryum kullanılmıştır. Bu akvaryumlardan ikisine 120 L dinlendirilmiş musluk suyu içerisinde, pestisitün LD_{50} dozunun 1/5 ve 1/3'i olan (Pimental, 1971) 0.20 ve 0.35 ppm derişimleri hazırlanmış, üçüncü akvaryum ise kontrol grubu olarak denenmiştir. Araştırmada, balıklar 1, 2, 3, 4, 15 ve 30 günlük süreler boyunca Azinphosmethyl'in etkisine bırakılmıştır. Denemeler her tekrarda iki balık ile üç tekrarlı olarak yürütülmüştür. Deney çözeltileri, buharlaşma, çökeltme ve adsorbsiyon gibi nedenlerle zaman içerisinde derişim değışiklikleri olabileceğinden, 48 saat arayla değıştirilmiştir.

Belirlenen süreler sonunda balıklar, akvaryumdan çıkartılıp musluk suyu ile yıkanmış ve kurutma kağıdı ile üzerlerindeki su damlacıkları alınarak vücut yüzeylerinden pestisit residülerinin uzaklaşması sağlanmıştır. Balıkların solungaç, beyin, böbrek ve dalak dokuları dizekte edilerek, serum fizyolojik (%0,9'luk NaCl çözeltisi) ile yıkanmıştır. Daha sonra yaş ağırlıkları belirlenen dokular total protein miktarlarını saptamak üzere -20°C'de saklanmıştır.

Hazırlanan doku örnekleri, 0.3 M süroz (Merck, Extra pure) çözeltisi içerisinde Ultra - Turrax ; T - 25 homojenizatör ile 24 000 dev/dak. da 3 dakika homojenize edilmiş, homojenizasyonu bozan partikülleri ortamdan uzaklaştırmak için, homojenatlar 2000 dev/dak.'da 10 dakika süreyle santrifüjlenmiştir (Hettich ; Universal - 1200). Homojenatlardaki total protein derişimi Lowry Metodu'na göre belirlenmiştir (Lowry ve ark., 1951). Bu amaçla homojenattan 0.3 ml alınarak deney tüplerine aktarılmış ve üzerlerine 3 ml alkali çözelti (50 ml 0.1 M NaOH'ta çözünmüş %2'lik Na_2CO_3 + 0.5 ml %1'lik CuSO_4 + 0.5 ml %2'lik Na-K tartarat) katılarak oda sıcaklığında 15 dakika bekletildikten sonra deney tüplerine 0.3 ml Folin - Ciocalateau's Fenol ayracından (Sigma) eklenmiş ve aynı koşullarda 30 dakika daha bekletilmiştir. Analize hazır hale getirilen örneklerdeki total protein absorbans verileri spektrofotometrede (Bausch and Lomb; Spectronic 20) 750 nm dalga boyunda okunmuştur.

Bilinen derişimlerdeki sığır albumin (Sigma) çözeltilerine karşı gelen absorbans değerlerinin saptanması için taze hazırlanmış stok albumin (100 mg albumin/ml) çözeltisinden seyreltmeler yapılarak 1.25, 1.0, 0.75, 0.050, 0.025 mg/ml derişimlerindeki çözeltiler hazırlanmıştır. Bu derişimlere karşı gelen absorbans değerleri elde edilerek verilere regrasyon analizi uygulanmış ve protein derişimi ile absorbans arasında doğrusal bir ilişki bulunmuştur.(Şekil 1). Dokuların protein derişimlerinin belirlenmesinde protein derişimi ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki kullanılmıştır. Absorbans Y, protein derişimi ise X ile gösterildiğinde bu doğrunun regrasyon eşitliği ;

$$Y = 1.66X + 0.054 \text{ olarak vurgulanabilir.}$$



Şekil 1. Protein derişimi ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki.

Solungaç, böbrek, beyin ve dalakta protein miktarlarının saptanmasında dokuların yaş ağırlıkları, absorbans değerleri ve Şekil 1 de verilen protein derişimi ile absorbans arasındaki ilişkiyi gösteren regrasyon doğrusu kullanılmıştır.

Protein miktarlarının hesaplanmasına örnek olarak aşağıda 15 gün 0.35 ppm Azinphosmethyl çözeltisinde kalan balıkların "a" tekrarı verilmiştir.

$$\text{Absorbans} = 0.30$$

$$\text{Örnek Ağırlığı} = 0.021 \text{ g y. a.}$$

$$\text{Derişim} = \frac{\text{absorbans} - 0.054}{1.66} \text{ mg / ml}$$

$$\begin{aligned} &= \frac{0.30 - 0.054}{1.66} \text{ mg / ml} \\ &= 0.148 \text{ mg / ml} \end{aligned}$$

Örnekler damıtık su ile 10 ml'ye tamamlandığından toplam örnekteki protein derişimi ;

$$\text{Total derişim} = 0.148 \times 10 = 1.48 \text{ mg / 10 ml}$$

Bir gram yaş ağırlıktaki protein miktarı ise;

$$\text{Derişim} = \frac{1.48}{0.021} = 70.57 \text{ mg / g y. a.}$$

Aynı işlemler "b" ve "c" tekrarları için yapıldığında protein miktarları sırasıyla 69.88 ve 67.09 mg / g y. a. olarak belirlenmiştir. Bunların aritmetik ortalaması olarak 69.18 mg / g y. a. değeri bulunmuştur.

Deney verilerinin istatistik değerlendirilmesi "Regrasyon Analizi", "Varyans Analizi" ve "Student-Newman Keul's Test (SNK)" uygulanarak yapılmıştır (Rohlf ve Sokal, 1969 ; Sokal ve Rohlf , 1969).

ARAŞTIRMA BULGULARI

Deneme sürecinde, Azinphosmethyl etkisinde balıklarda besin alamama, operkulumlarını sık açıp kapama ve yüzme hareketlerinde bozukluklar gözlenmiştir.

Farklı pestisit ortam derişimlerinde *Cyprinus carpio*'da dokuların yaş ağırlıkları, total protein absorbans değerleri ile protein miktarları solungaç ve böbrek için EK TABLO 1 de. beyin ve dalak dokuları için EK TABLO 2 de verilmiştir.

Belirlenen her süre ve ortam derişiminde 3 tekrarlı olarak saptanan protein miktarlarının aritmetik ortalamaları solungaç, böbrek, beyin ve dalak için sırası ile TABLO 1, 2, 3, 4 de ve grafiksel anlatımları ise Şekil 2,3,4,5 te sunulmuştur.

Tablolardaki x, y, z harfleri derişimler arası; a, b, c, d, e harfleri süreler arası ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Tablolarda farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p < 0.01$ önem derecesinde istatistiksel ayırım vardır.

Solungaç dokusunda 1. günde 0.20 ppm Azinphosmethyl derişiminde protein miktarı kontrole oranla %56.32 oranında azalırken , 2. ve 3. günlerde artmıştır. 4. ve 30. günde değişim göstermeyen protein düzeyi 15. günde kontrole göre düşmüştür(TABLO 1, Şekil 2). Süreye bağlı olarak 3. güne kadar kontrole oranla yükselen bu değer, diğer günlerde azalırken 15. günden sonra yeniden bir artış göstermiştir.

0.35 ppm derişimde aynı dokuda protein miktarı kontrole oranla 1. günde %37.06 azalırken, 3. günde %74.42 oranında yükselmiştir. 4. ve 15. günlerde protein miktarı değişim göstermemiş ve 30. günde kontrol değerine yaklaşmıştır (TABLO 1). Aynı derişimde protein miktarı süreye bağlı olarak kontrole oranla 2. ve 3. günlerde artış gösterirken, 4. günde azalmış ve 30. güne kadar artmıştır.

Derişimler karşılaştırıldığında, protein miktarları 0.35 ppm derişimde 0.20 ppm derişime göre 1. ve 15. günlerde daha fazla bulunmuştur (TABLO 1).

Böbrekte protein miktarı 0.20 ppm Azinphosmethyl etkisinde kontrole oranla 15. güne kadar bir azalma göstermiştir. Protein düzeyindeki bu azalma 1. günde kontrolün 2.7 ve 15. günde 2.5 katı kadardır. 30. günde ise kontrolün 1.6'sı kadar bir artış gözlenmiştir (TABLO 2). Protein miktarı süreye bağlı olarak başlangıçta yükselirken 15. günde azalmış ve 30. günde tekrar artmıştır (TABLO 2, Şekil 3).

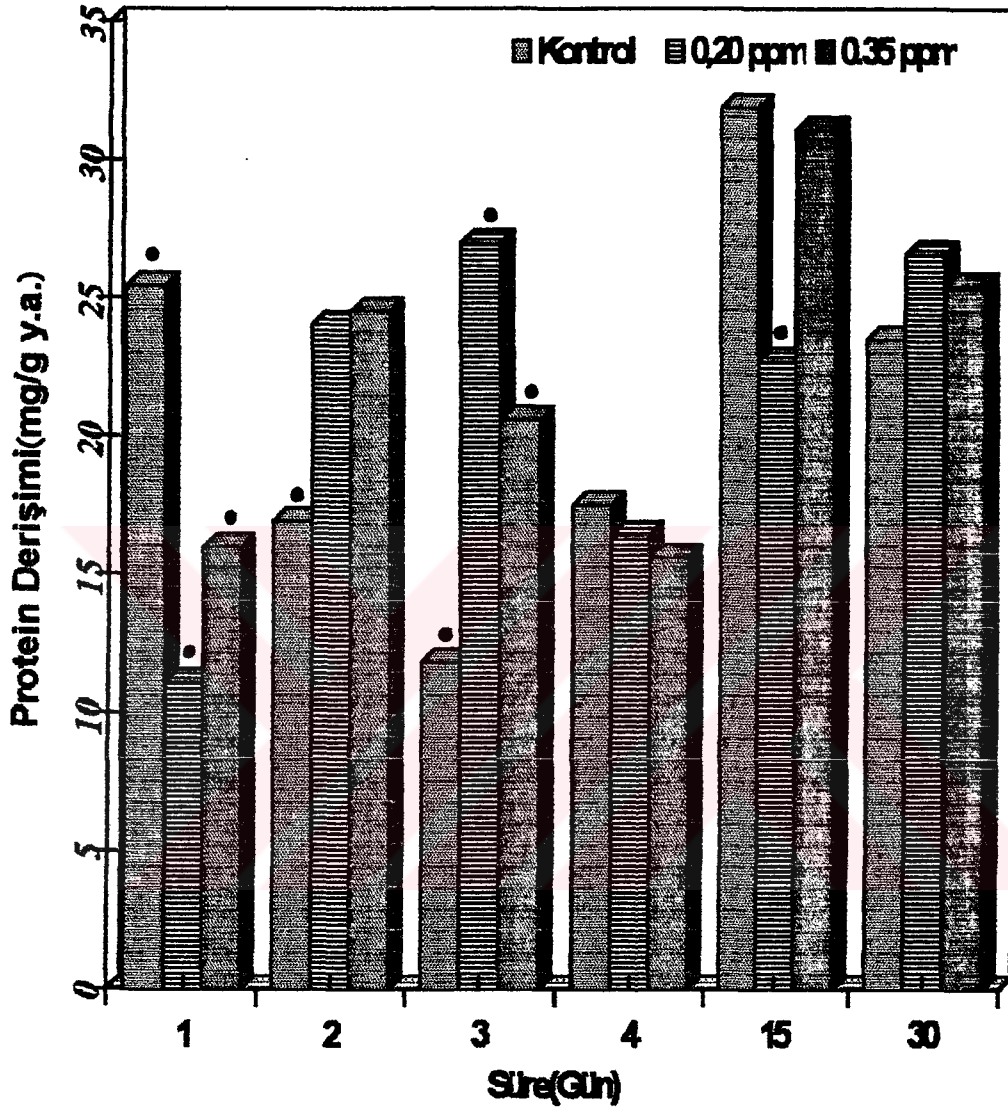
TABLO 1. *C.carpio*'da Azinphosmethyl ortam derişimi ve sürenin solungaçta protein miktarı (mg/g y. a.) üzerine etkileri.

SÜRE(GÜN)

	1			2			3			4			15			30		
Derişim (ppm)	$\bar{X}$	$\pm$ sx	*	$\bar{X}$	$\pm$ sx	*	$\bar{X}$	$\pm$ sx	*	$\bar{X}$	$\pm$ sx	*	$\bar{X}$	$\pm$ sx	*	$\bar{X}$	$\pm$ sx	*
0,00	25,44	$\pm$ 0,33	xa	16,93	$\pm$ 0,66	xb	11,81	$\pm$ 0,74	xc	17,48	$\pm$ 0,61	xb	31,87	$\pm$ 0,45	xd	23,49	$\pm$ 0,23	xa
0,20	11,11	$\pm$ 0,44	ya	24,01	$\pm$ 0,56	yb	26,98	$\pm$ 0,10	yb	16,42	$\pm$ 0,88	xc	22,72	$\pm$ 0,97	yb	26,60	$\pm$ 0,26	xb
0,35	16,01	$\pm$ 0,59	za	24,50	$\pm$ 0,87	yb	20,60	$\pm$ 0,37	zc	15,59	$\pm$ 0,50	xa	31,04	$\pm$ 0,92	xd	25,42	$\pm$ 0,58	xb

* = SNK; x, y, z harfleri derişimleri; a, b, c, d harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p < 0.01$ düzeyinde ayrım vardır.

$\bar{X} \pm sx$ = aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata



Şekil 2. *C. carpio*'da Azinphosmethyl etkisinde solungaçta kantitatif total protein değişimi.

(• = $P < 0.01$ düzeyinde önemlidir.)

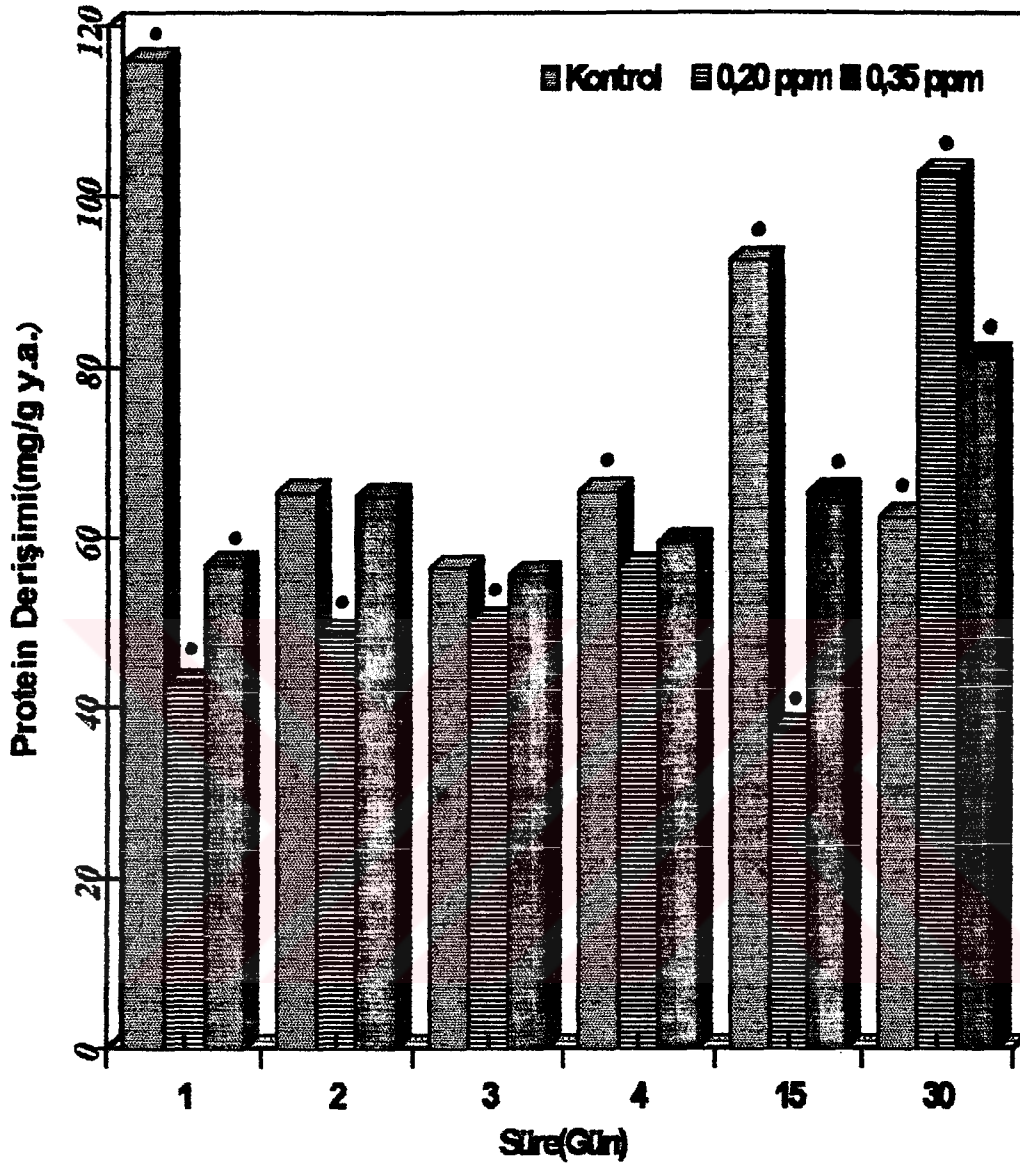
TABLO 2. *C. carpio*'da Azinphosmethyl ortam derişimi ve sürenin böbrekte protein miktarı (mg/g y. a.) üzerine etkileri.

SÜRE(GÜN)

	1		2		3		4		15		30	
Derişim (ppm)	$\bar{X}$	$\pm$ sx *	$\bar{X}$	$\pm$ sx *	$\bar{X}$	$\pm$ sx *	$\bar{X}$	$\pm$ sx *	$\bar{X}$	$\pm$ sx *	$\bar{X}$	$\pm$ sx *
0,00	115,88 $\pm$ 0,90	xa	65,21 $\pm$ 0,70	xb	56,33 $\pm$ 0,44	xc	65,36 $\pm$ 0,91	xb	92,46 $\pm$ 0,90	xd	62,43 $\pm$ 0,77	xb
0,20	42,91 $\pm$ 0,48	ya	48,75 $\pm$ 0,54	yb	50,20 $\pm$ 0,25	yb	56,63 $\pm$ 0,43	yc	37,52 $\pm$ 0,85	yd	102,70 $\pm$ 0,41	ye
0,35	56,70 $\pm$ 0,67	za	64,78 $\pm$ 0,78	xb	55,56 $\pm$ 0,87	xa	59,38 $\pm$ 0,97	ya	69,18 $\pm$ 0,78	zb	81,20 $\pm$ 0,20	zc

* = SNK; x, y, z harfleri derişimleri; a, b, c, d, e harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p < 0.01$ düzeyinde ayrım vardır.

$\bar{X} \pm sx$ = aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata



Şekil 3. *C. carpio*'da Azinphosmethyl etkisinde böbrekte kantitatif total protein değişimi.

(• = $P < 0.01$ düzeyinde önemlidir.)

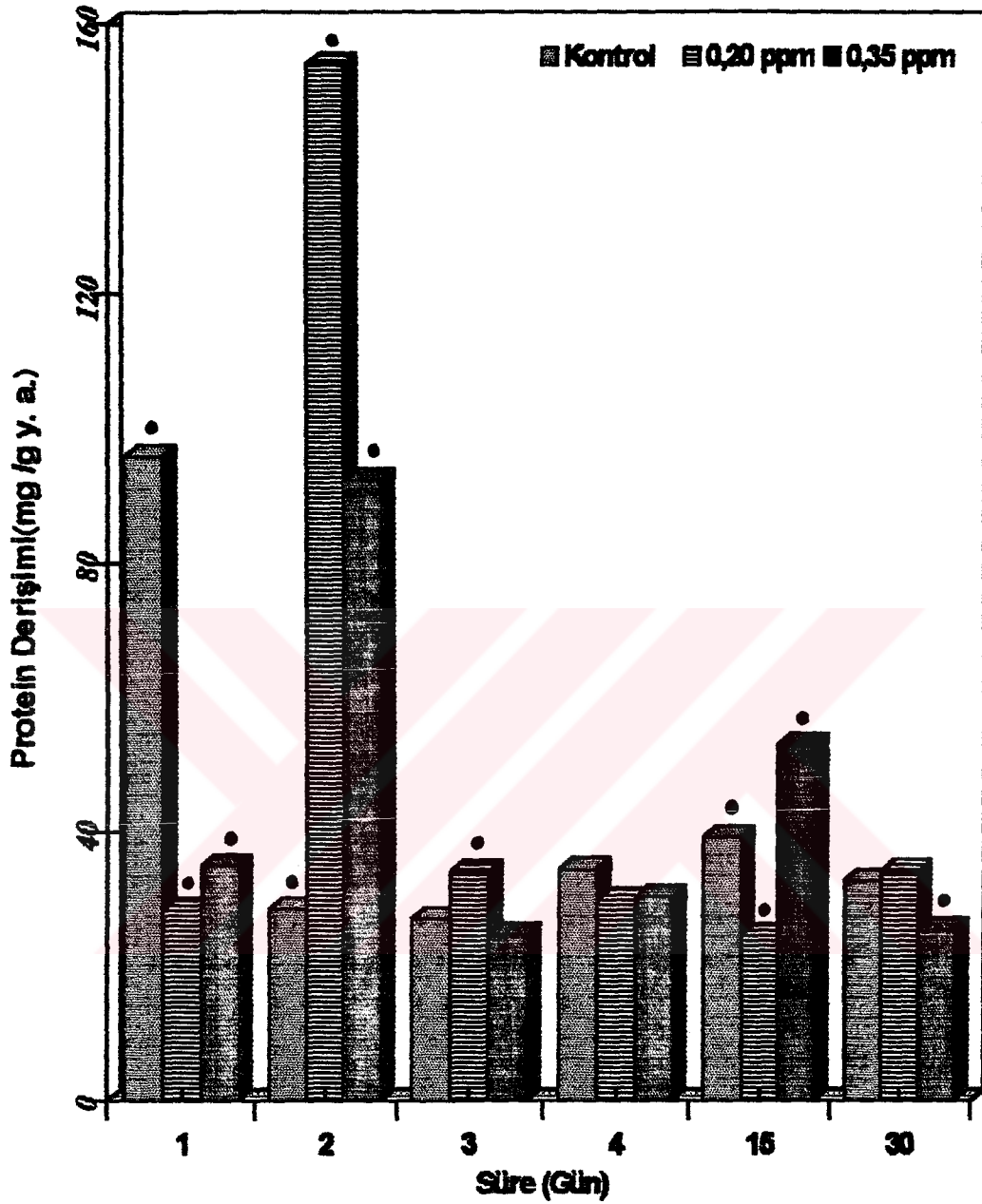
TABLO 3. *C.carpio*'da Azinphosmethyl ortam derişimi ve sürenin beyinde protein miktarı (mg/g y. a.) üzerine etkileri.

SÜRE(GÜN)

	1			2			3			4			15			30		
Derişim (ppm)	$\bar{X}$	$\pm$ sx	*	$\bar{X}$	$\pm$ sx	*	$\bar{X}$	$\pm$ sx	*	$\bar{X}$	$\pm$ sx	*	$\bar{X}$	$\pm$ sx	*	$\bar{X}$	$\pm$ sx	*
0,00	95,79	$\pm$ 0,89	xa	28,53	$\pm$ 0,22	xb	26,98	$\pm$ 0,10	xb	34,46	$\pm$ 0,87	xc	39,19	$\pm$ 0,38	xd	32,77	$\pm$ 0,86	xc
0,20	28,44	$\pm$ 0,42	ya	153,90	$\pm$ 0,94	yb	34,04	$\pm$ 0,52	yc	29,83	$\pm$ 0,68	xa	24,54	$\pm$ 0,82	yd	34,08	$\pm$ 0,43	xc
0,35	34,95	$\pm$ 0,40	za	92,18	$\pm$ 0,46	zb	24,76	$\pm$ 0,37	xc	30,31	$\pm$ 0,76	xd	52,93	$\pm$ 0,98	ze	25,42	$\pm$ 0,58	yc

* = SNK; x, y, z harfleri derişimleri; a, b, c, d, e harfleri süreler arası aynımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p < 0.01$ düzeyinde aynım vardır.

$\bar{X} \pm sx$ = aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata



Şekil 4. *C. carpio*'da Azinphosmethyl etkisinde beyinde kantitatif total protein değişimi.

(• = $P < 0.01$ düzeyinde önemlidir.)

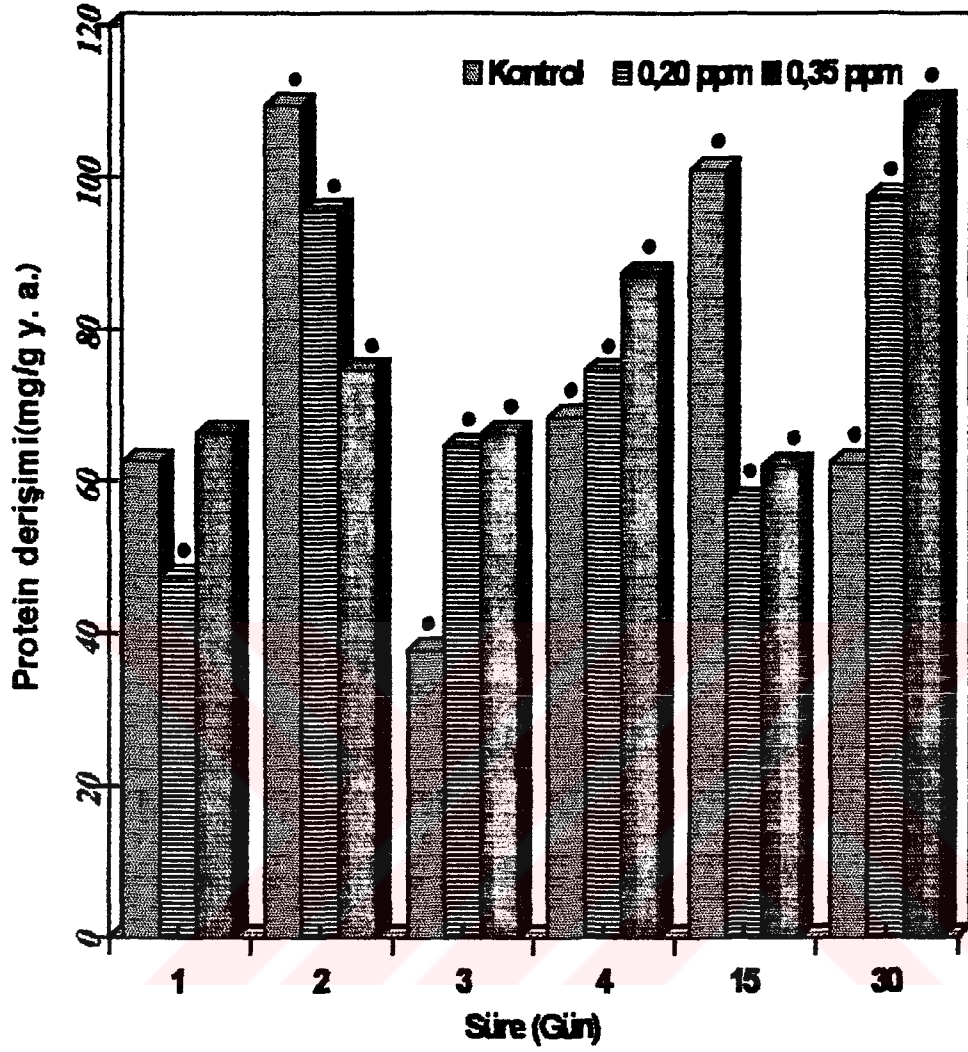
TABLO 4. *C. carpio*'da Azinphosmethyl ortam derişimi ve sürenin dalakta protein miktarı (mg/g y. a.) üzerine etkileri.

SÜRE(GÜN)

	1			2			3			4			15			30		
Derişim (ppm)	$\bar{X}$	$\pm$ sx	*	$\bar{X}$	$\pm$ sx	*	$\bar{X}$	$\pm$ sx	*	$\bar{X}$	$\pm$ sx	*	$\bar{X}$	$\pm$ sx	*	$\bar{X}$	$\pm$ sx	*
0,00	62,66	$\pm$ 0,92	xa	109,40	$\pm$ 0,50	xb	37,76	$\pm$ 0,30	xc	68,33	$\pm$ 0,49	xd	100,90	$\pm$ 0,91	xe	62,43	$\pm$ 0,77	xa
0,20	47,37	$\pm$ 0,55	ya	95,56	$\pm$ 0,59	yb	64,73	$\pm$ 0,38	yo	74,43	$\pm$ 0,83	yd	57,45	$\pm$ 0,30	ye	97,44	$\pm$ 0,66	yb
0,35	66,33	$\pm$ 0,40	xa	74,47	$\pm$ 0,98	zb	66,31	$\pm$ 0,46	za	87,29	$\pm$ 0,65	zc	62,00	$\pm$ 0,17	zd	109,70	$\pm$ 0,71	ze

* = SNK; x, y, z harfleri derişimleri; a, b, c, d, e harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p < 0.01$ düzeyinde ayrım vardır.

$\bar{X} \pm sx$ = aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata



şekil 5 . *C. carpio*'da Azinphosmethyl etkisinde dalakta kantitatif total protein değişimi.

(• = $P < 0.01$ düzeyinde önemlidir.)

Aynı dokuda, 0.35 ppm derişimde 1. günde kontrole göre azalan protein düzeyi 2. ve 3. günlerde değişim göstermezken, 15. günde yeniden azalmış; 30. günde ise artmıştır (TABLO 2). Böbrekte protein miktarı süreye bağlı olarak kontrole oranla 30. günde önemli derecede yükselmiştir (Şekil 3).

Her iki derişimde, sadece 4. günde böbrek protein miktarında bir değişim görölmemiş, 15. günde 0.35 ppm derişimde 0.20 ppm derişime oranla artarken 30. günde ise azalmıştır (Şekil 3).

Beyin dokusunda protein miktarında 0.20 ppm derişimde 1. günde 3.4 oranında bir azalma gözlenirken, 2. ve 3. günlerde artmış ve 4. günde kontrol düzeyine yaklaşmıştır. 15. günde azalan bu değer 30. günde tekrar kontrol değerine yaklaşmıştır (TABLO 3, Şekil 4). Bu dokuda süreye bağlı olarak, kontrole göre 2. günde önemli bir artış gösteren protein miktarı 15. güne kadar azalırken, 30.günde tekrar artmıştır.

0.35 ppm derişimde beyin dokusunda 1. günde azalan protein düzeyi 2. günde artış göstermiştir. 3. ve 4. günde kontrole oranla değişim görölmezken, 15. günde yeniden artmış, 30. günde ise azalmıştır. Süreye bağlı olarak, 0.35 ppm derişimde 2. günde kontrole göre bir artış gösteren protein miktarı, 3. günde azalmakla beraber 15. günde artmış, 30. günde yeniden bir azalma göstermiştir(TABLO 3).

Aynı dokuda derişimlere göre, protein düzeyi 0.35 ppm derişimde 1. günde 0.20 ppm'e göre artma olmakla beraber 2. ve 3. günlerde azalmış, 4. günde ise bir değişim bulunmamıştır. 15. günde görülen artışı 30. günde bir azalma izlemiştir.

Dalak dokusunda 0.20 ppm derişimde 1 ve 2. günlerde kontrole göre azalma gösteren protein miktarı 3 ve 4. günlerde artmış, 15. günde yeniden azalarak 30. günde tekrar yükselmiştir (TABLO 4). Süreye bağlı olarak, kontrole oranla başlangıçta artan bu değer, 15. günde azalmış ve 30. günde yeniden artmıştır.

0.35 ppm derişimde 1. günde kontrole oranla bir değişim gözlenmezken 2. ve 15. günlerde protein düzeyi azalmış, diğer günlerde ise artmıştır. Süreye bağlı olarak, kontrole göre 2. ve 15. günlerde azalan protein miktarı, diğer günlerde değişim göstermemiştir.

Derişimlere göre bu dokudaki protein düzeyinde, 0.35 ppm'de 30. günde, 0.20 ppm derişimde ise 2. günde önemli bir artış saptanmıştır.

Protein miktarındaki değişim dokular arasında karşılaştırıldığında; 0.20 ppm Azinphosmethyyl derişiminde 1. günde, solungaç, beyin, böbrek ve dalaktaki protein miktarı kontrole oranla önemli ölçüde azalmıştır. 2. günde, solungaç ve beyinde protein düzeyi artmış, dalak ve böbrek dokularında ise azalma devam etmiştir. 3. günde, solungaç, beyin ve dalaktaki protein miktarındaki yükselme kontrolden daha fazla olurken, böbrekte düşme saptanmıştır. 4. günde bu değer, solungaç ve beyinde

kontrole göre değişim göstermemiş, böbrekte azalma olurken dalakta bir artış gözlenmiştir. 15. günde, en fazla dalakta olmak üzere, denenen tüm dokularda protein miktarında azalma olmuştur. 30 günlük süre sonunda ise solungaç ve beyinde protein miktarı kontrole göre farklılık göstermezken, böbrek ve dalak dokularında artış görülmüştür.

0.35 ppm Azinphosmethyl derişiminde protein düzeyi 1. günde dalak dokusunda kontrole oranla değişim göstermezken solungaç, beyin ve böbrekte önemli derecede azalmıştır. 2. günde, solungaç ve beyinde protein miktarı yükselmiş, bu değer böbrek dokusunda değişmemiş, dalakta ise bir azalma göstermiştir. Protein miktarı, 3. günde solungaç ve dalakta artarken, 4. günde böbrekte azalıp, dalakta artmış; solungaç ve beyin dokularında kontrole göre farklılık görülmemiştir. Bu değer, 15. günde beyin dokusunda artarken, böbrek ve dalak dokularında azalmıştır. 30. günde dalak ve böbrek dokularında yükselen protein düzeyinin, beyinde azaldığı, solungaç dokusunda ise değişmediği bulunmuştur.

TARTIŞMA

Bu araştırmada, organofosforlu insektisit Azinphosmethyl'in *C. carpio*'da solungaç, böbrek, beyin ve dalak dokularında total protein miktarlarına etkileri incelenmiştir.

Azinphosmethyl alınımından hemen sonra balıklarda strese bağlı olarak besin alamama, operkular hareketlerde hızlanma ve akvaryum içerisinde aynı noktalar arasında gidip gelme şeklinde davranış değişimlerine rastlanmıştır. 15. günden sonra sakinleşmeye başlayan balıkta kas kasılmaları ve uyumsuzluklar bir süre daha devam etmiştir. Phosphamidon, Endosülfan ve Aldicarb pestisitlerinin etkisi ile de benzer davranış bozukluklarının *P. conchionus* 'da da görüldüğü bildirilmektedir (Gill ve ark., 1991a).

Bu çalışmada, Azinphosmethyl etkisinde protein düzeylerinin incelenen solungaç, böbrek, beyin ve dalak dokularında derişimlere ve süreye bağlı değişimler gösterdiği belirlenmiştir.

Balık dokularında yüksek oranda bulunan proteinlerin, pestisit stresi sürecinde artan enerji ihtiyacını karşılamada önemli roller üstlendiği bildirilmektedir (Erlaçin, 1985 ; Heath, 1987). Olumsuz koşullarda, besin alınamaması halinde *C. carpio* gibi omnivor türlerin ana enerji kaynakları proteinlerdir. Balığın beslenme esnasındaki enerji kazancının ya da kaybının, doku protein miktarlarının değişimi ile kendini gösterdiği açıklanmıştır (Diana, 1982).

Bu çalışmada, Azinphosmethyl'in düşük ve yüksek derişimlerinin etkisinde 1. günde solungaç, böbrek, beyin ve dalak dokularında protein miktarında saptanan azalmaların, pestisit stresine bağlı olarak balıkların beslenememesi sonucunda gerekli enerji ihtiyacının doku proteinlerinden sağlanmasına bağlı olduğu düşünülmektedir.

Organofosforlu pestisit uygulamalarının balık dokularında hipoproteinemiye neden olduğu çok sayıda araştırmada gösterilmiştir (Bouche ve Vellas, 1975; Kabeer ve ark.,1983; Reddy ve Philip, 1991). Malathion stresindeki *C. carpio*'da belirlenen total protein azalmasının ortaya çıkan enerji gereksinimini karşılamak üzere artan hidrolitik aktivite ürünlerinin aminotransferaz sistemi ile TCA'ya gönderildiği açıklanmıştır (Reddy ve Philip, 1991).

Proteinlerin nükleik asitlerden sentezlenmesini aktive eden enzim sistemi içinde görev alan asit ve alkali fosfatazların, *B. rerio*'da Malathion etkisinde düşüş gösterdikleri bildirilmiştir. Organofosforlu bileşiklerin, genellikle serin residüleri taşıyan enzimleri inhibe etmeleri asetilkolin esterase (AChE) gibi alkali fosfatazların inhibe edilmelerinin nedenini de açıklamaktadır (Kumar ve Ansari, 1986). Azinphosmethyl

etkisinde de *C. carpio*'da alkalen fosfataz enziminin 1. günde azalma göstermesi (Özcan,1994), bu çalışmada protein miktarında başlangıçta gözlenen azalmanın, protein sentezinin engellenmesi nedeni ile de olabileceğini düşündürmektedir.

Bu araştırmada, *C. carpio*'da solungaç dokusunda protein miktarının düşük derişimde ilk ve 15. günlerde, yüksek derişimde yalnız ilk günde azaldığı, süre sonunda ise kontrol düzeyine ulaştığı saptanmıştır. Balıklarda pestisit alınımı büyük ölçüde solungaç yolu ile olmaktadır. *C. striatus*'da Metasystox (Natarajan, 1984) ve *T. mossambica*'da Methyl Parathion (Rao ve ark., 1985) etkisinde ortaya çıkan solungaç epiteli parçalanmasının ve organ etrafında oksijen geçişini engelleyen koagülasyon filminin neden olduğu histotoksik anoksiyanın, bu dokuda oksidatif zararlar oluşturarak nükleik asit ve protein sentezini azalttığı bildirilmektedir (Rodriguez-Ariza ve ark., 1993). Malathion'un subletal uygulamalarının *T. mossambica* 'da solungaç dokularındaki çözünen ve çözünmeyen protein miktarını yükselttiği fakat bu yükselmenin protein dönüşümündeki kararsızlık nedeniyle dalgalanmalar meydana getirdiği açıklanmıştır. Malathion uygulanan balıklarda çözünmeyen proteinlerin çözünen proteinlerden daha az değişim göstermesinin, alkalen proteaz düzeyinin artmasına neden olduğu saptanmıştır. Öte yandan 12 saatten sonra bazik protein derişimi yükselmesinin, pH artışına neden olarak Malathion'un etkisinin azalmasına yol açtığı belirtilmiştir. Kabeer ve ark., (1983)'nın bildirdiğine göre Holden (1973), Malathion toksisitesinin bazik ortamlarda azaldığını saptamıştır.

Bu çalışmada, *C. carpio*'da böbrek dokusunda her iki derişimde de protein miktarında 15. güne kadar azalma, süre sonunda da bir artış belirlenmiştir. *T. mossambica*'da da böbrekte 5, 10 ve 15 gün Heptaclor etkisinde protein miktarının azaldığı ve bunun dokulardaki amino asit havuzunun artmasına neden olan protein bozulmasından kaynaklanabileceği ileri sürülmektedir (Radhaiah ve ark., 1987). *Brachydanio rerio*'da Malathion ile yapılan çalışmada nükleik asit ve protein miktarları belirli oranlarda azalmıştır. DNA miktarındaki azalmanın, Malathion'un DNA sentezini etkilemesinden kaynaklanmış olabileceği ileri sürülmektedir. Primer DNA ve RNA polimeraz reaksiyonlarında görev alması nedeniyle, DNA'nın inhibe edilmesi hem RNA hem de DNA sentezinin inhibe edilmesine neden olacaktır. Kimyasal maddelerin; 1) Protein ve RNA üretimi için gerekli olan RNA sentezini inhibe ederek, 2) Amino asitlerin polipeptit zincirinden alınmasını engelleyerek, 3) Protein hidrolizini artırarak protein miktarını etkilediği belirlenmiştir (Kumar ve Ansari, 1986). Böbrekte karaciğer dokusunun tersine AChE ile birlikte üç detoksifikasyon enziminin de etkilendiği belirlenmiştir. Bu sonuç, balıklarda Dichlorvos'un böbrekte kaldığını ve eliminasyonun memelilerde olduğu gibi en son böbrekten yapıldığını göstermiştir. Böbrekte inhibe

edilen enzimler plazmik membran, sitosol ve endoplazmik retikulum gibi hücrenin farklı bölümlerinde yerleşmişlerdir (Demaël ve ark., 1990). *C. carpio*'da Malathion etkisinde protein derişiminin 15. günden sonra kontrol değerine yaklaşmasının, protein dönüşümünde bir dalgalanma olduğu veya zaman içerisinde zararların giderilerek balığın mevcut şartlara adapte olabilmesinden kaynaklandığı ileri sürülmektedir (Reddy ve Philip, 1991). Bir organizmanın içinde bulunduğu fizyolojik koşulların etkisiyle gereksinimi olan bileşikler normal düzeyine ulaştırmak için daha fazla sentezlemeye eğilimli olduğu belirtilmiştir (Mohideen ve Reddy, 1987 ; Reddy ve Philip, 1991). *C. carpio*'da Azinphosmethlyl etkisinde böbrekte görülen protein düzeyindeki artışların bu nedenlerden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

C. carpio'nun beyin dokusunda, Malathion stresinin 7. ve 15. günlerinde proteaz aktivitesini artırarak, protein derişimini azaltırken, amino asit miktarının arttığı bildirilmektedir (Mohideen ve Reddy, 1987). *T. mossambica*'da, Methyl Parathion etkisinde beyin dokusundaki oksijen alınımindaki azalmanın, beyindeki kontrol mekanizmalarını etkilediği ve buna bağlı olarak metabolik aksaklıklara neden olduğu açıklanmıştır (Rao ve ark., 1985). *C. carpio*'da Dichlorvos'un üç günlük kısa süreli uygulamalarının beyin, dalak, böbrek ve karaciğer dokularında AChE aktivitesini azalttığı açıklanmıştır (Demaël ve ark., 1990). AChE aktivitesini spesifik olarak etkileyen Trichlorphon 'un da *C. carpio* 'da beyin ve plazma AChE düzeyini azaltarak merkezi sinir sisteminde toksik etkiler oluşturduğu saptanmıştır (Siwicki ve ark., 1990). Organofosforlu bir bileşiğin etki mekanizmasındaki önemli ilk adımın, sinir sistemindeki esteraz aktivitesine sahip bir proteinin fosforilizasyonuna neden olarak sinirsel iletimin gecikmesine, ayrıca Kolin esterazın inhibe edilmesinin farelerde protein eksikliğine neden olduğu belirtilmiştir (WHO, 71, 1986). Çok adımlı kontrol aşamalarıyla regülasyonu sağlayan immün sistem, aynı zamanda endokrin düzenlemelerden geçen homeostatik uyumlara da oldukça duyarlıdır ve sinir sistemindeki biyokimyasal değişimlerden de etkilenmektedir. Hücreler arasındaki işbirliği ve karşılıklı etkileşim, bu sistemin yanıt vermesinde oldukça etkilidir. Bu nedenle hücreler arası haberleşmeyi sağlayan sinir sisteminin inhibe edilmesi, metabolik işlevlerde aksamalara neden olarak bu işlevlerin gerçekleştirilmesinde rol oynayan protein sentezinde bozulmalara yol açmaktadır. Malathion etkisinde de, *C. carpio*'nun beyin dokusunda, 30. günde protein miktarının artarak normale yaklaşması, kronik pestisit uygulamalarının önce tüketime neden olduğu, 30. günde ise bu tüketimi karşılamaya yönelik olarak sentez hızının artırıldığını göstermiştir (Mohideen ve Reddy, 1987).

Yaptığımız çalışmada da *C. carpio*'da beyin dokusunda düşük ve yüksek pestisit derişimlerinde başlangıçta protein miktarında bir azalmanın ve düşük derişimde son

günde bir artışın gözlenmesi yukarıda bildirilen nedene bağlı olabilir. Süre sonunda protein düzeyinin yüksek derişimde azalması, sinir sisteminde rejenarasyonun kısıtlı olması nedeni ile balığın bu derişimde ortam şartlarına uyum sağlamada zorlandığını göstermektedir.

Yapılan çalışmalar, balıklarda insektisitlerin plazma proteinlerine bağlandığını ve eritrositlerdeki enzim aktivitelerini engellediğini göstermiştir (Denison ve Yarbrough, 1985; Gabryelak ve Klekot, 1985). *I. punctatus*'da Chlorpyrifos'un dalak dokusunda biriktiği bildirilmektedir (Barron ve ark., 1993). Bu çalışmada düşük ve yüksek pestisit derişimlerinde protein miktarında süreye bağlı değişimler gözlenmiştir. Pestisit stresinin giderilmesi için eritrositlerin hızla üretilmesi ve bu nedenle harcanan enerjinin proteinlerden sağlanmış olabileceği, öte yandan, dalak dokusundaki pestisit etkisinin dokuda oluşturduğu zararlar nedeniyle protein derişimini azaltabileceği düşünülmektedir. Endosülfan etkisinde, *Barbus conchoni*'un karaciğer dokusunda protein derişiminin dalgalanmalar göstererek arttığı ve bu artışın, hücre organellerinin onarılması veya dokuların yenilenmesi; ya da pestisit detoksifikasyonu sırasında önemli derecede harcanan enerjiyi veya hücresel zararlar sonucu yok olan enzimleri karşılamak üzere yoğun olarak üretilmesinden kaynaklandığı belirtilmiştir (Gill ve ark., 1991b). Dalak dokusunda protein miktarında saptanan artışların benzer nedenlerden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, *C. carpio*'da AzinphosmethyI etkisinde protein miktarının solungaç, böbrek, beyin ve dalak dokularında ilk günde azalması, proteinlerin enerji ihtiyacını karşılamak üzere kullanılırken, pestisit etkisinde protein sentezinin de engellenmiş olabileceğini düşündürmektedir. Protein miktarının ilerleyen süre içerisinde dalgalanmalar göstererek 30. günde yüksek derişimde beyin dışındaki tüm dokularda kontrol değerlerine yaklaşması oluşan zararların giderilerek balığın ortam koşullarına adapte olması ile açıklanabilir.

Bu çalışma ile, solungaç dokusunun pestisit stresine diğer dokulardan daha kolay adapte olduğu belirlenmiştir. Böbrek dokusunda protein miktarının 15. güne kadar azalma göstermesi, böbreğin eliminasyon görevine bağlı olarak, en fazla zarar gören organ olduğunu düşündürmektedir. Beyin dokusunda proteinin yüksek derişimde azalma göstermesinin doku rejenarasyonundaki gecikmeden kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Dalak dokusunun ise pestisit etkisinde diğer dokulardan daha az zarar gördüğü saptanmıştır.

ÖZET

CYPRINUS CARPIO (L.)' DE AZINPHOSMETHYL'İN SOLUNGAÇ, BÖBREK, BEYİN VE DALAK DOKULARINDA TOTAL PROTEİNİN KANTİTATİF DEĞİŞİMİNE ETKİLERİ

Bu çalışmada, organofosforlu insektisit Azinphosmethyl'in *Cyprinus carpio*'da farklı ortam derişimlerinin ve etkide kalma sürelerinin solungaç, böbrek, beyin ve dalak dokularında total protein miktarlarına etkileri incelenmiştir.

Deney balıkları, Azinphosmethyl'in 0,20 ve 0,35 ppm derişimlerinde 1, 2, 3, 4, 15 ve 30 gün sürelerle bırakılarak doku protein miktarı Folin-Lowry yöntemiyle spektrofotometrik olarak incelenmiştir.

0.20 ppm Azinphosmethyl derişiminde 1. günde, solungaç, beyin, böbrek ve dalaktaki protein miktarı kontrole oranla önemli ölçüde azalmıştır. 2. günde, solungaç ve beyinde total protein miktarı artmış, dalak ve böbrek dokularında ise azalma devam etmiştir. 3. günde, solungaç, beyin ve dalakta protein miktarındaki artış kontrolden fazla olurken, böbrekte bir azalma saptanmıştır. 4. günde, solungaç ve beyin proteinleri kontrole göre derişim göstermemiş, böbrekte azalma olurken dalakta bir artış gözlenmiştir. 15. günde, en fazla dalakta olmak üzere, denen tüm dokularda total protein miktarında azalma olmuştur. 30 günlük süre sonunda ise solungaç ve beyinde protein miktarı kontrole göre farklılık göstermezken, böbrek ve dalak dokularında artış görülmüştür.

0.35 ppm Azinphosmethyl derişiminde total protein düzeyi 1. günde dalak dokusunda kontrole oranla derişim göstermezken solungaç, beyin ve böbrekte önemli derecede azalmıştır. 2. günde, solungaç ve beyinde protein miktarı yükselmiş, bu değer böbrek dokularında derişmemiş, dalakta ise bir azalma saptanmıştır. Protein miktarı, 3. günde solungaç ve dalakta artarken, 4. günde böbrekte azalıp, dalakta artmış; solungaç ve beyin dokularında ise kontrole göre bir farklılık görülmemiştir. 15. günde protein düzeyi beyin dokusunda artarken, böbrek ve dalak dokularında azalmıştır. 30. günde dalak ve böbrek dokularında yükselen protein miktarının, beyinde azaldığı, solungaç dokusunda ise derişmediği bulunmuştur.

İncelenen dokularda pestisit derişimi ve etkide kalma süresine bağlı olarak belirlenen protein miktarı derişimleri yorumlanarak ilgili literatür bulguları ile tartışılmıştır.

SUMMARY

EFFECTS OF AZINPHOSMETHYL ON THE QUANTITATIVE PROTEIN CHANGES IN GILL, KIDNEY, BRAIN AND SPLEEN TISSUES OF *CYPRINUS CARPIO* (L.).

Effects of Azinphosmethyl, an organophosphorated insecticide, on total protein content of gill, kidney, brain and spleen tissues of *Cyprinus carpio* were studied.

Total protein contents of the tissues were determined according to Folin-Lowry method after exposing the fish to 0.20 ppm and 0.35 ppm concentrations of Azinphosmethyl for 1, 2, 3, 4, 15, and 30 days.

Significant decreases were observed on the protein levels of the gill, kidney, brain and spleen tissues after 24 hours of exposure to 0.20 ppm Azinphosmethyl, compared with the control animals. Protein content of the gill and brain tissues increased and of the kidney and spleen tissues continued to decrease after 2 days of exposure to this concentration. On the fourth day, gill and brain protein levels show no significant difference compared with the control while a decrease in the kidney and an increase in spleen tissues were observed. Total protein content of all the tissues especially that of spleen decreased on the 15th day of exposure. On the 30th day the total protein levels of the gill and brain tissues were the same as in controls while showed an elevation in the in the kidney and spleen tissues.

The total protein level of the spleen did not differ significantly on the first day of exposure compared with the control and decreased significantly in the other tissues. Gill and brain protein levels increased, unvaried in the kidney and decreased in the spleen on the 2nd day. On the 3rd and 4th days of exposure total protein levels increased in spleen and showed no difference the brain tissue. Brain total protein levels increased on the 15th day and that of kidney and spleen increased. Total protein levels of the kidney and spleen increased, that of brain decreased and of the gill tissue unchanged on the 30th day of exposure.

Effects of concentration and exposure period on the protein contents of the tissues were discussed under the light of recent literature.

KAYNAKLAR

- ANEES, M. A., (1978). Hepatic Pathology in a Fresh-water Teleost *Channa punctatus* (Bloch) Exposed to Sub-lethal and Chronic Levels of Three Organophosphorus Insecticides. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 19, 524-527.
- BARRON, M. G., PLAKAS, S.M., WILGA, P. C. and BALL&, T., (1993). Absorbtion, Tissue Ditrubution and Metabolism of Chlorpyrifos in Channel Catfish Following Waterborne Exposure. Environmental Toxicology and Chemistry, 12, 1469-1476.
- BERNHOF, A. and SKAARE, J. U., (1994). Levels of Selected Individual Polychlorinated Biphenyls in Different Tissues of Harbour Seals (*Phoca vitulina*) from the Southern Coast of Norway. Environ. Pollut., 86, 99-07.
- BHATTACHARYA, S., (1985). Mechanism of Toxic Action of Pesticides on Enzymes and Its Reversal in Fishes. Geobios, 12, 241-244.
- BOUCHE, G. and VELLAS, F., (1975). Les Vitesses de Renouvellement Des Proteines Hepatiques, Musculaires et Plasmatiques de la Carpe (*Cyprinus carpio*) Soumise a un Jeune Total et Prolange. Comp. Biochem. Physiol., 51A, 185-193.
- DEMAEL, A., DUNIER, M., SIWICKI, A. R., (1990). Some Effects of Dichlorvos on Carp Metabolism. Comp. Biochem. Phsiol., 95 C(2), 237- 240.
- DENISON, M. S. and YARBROUGH, J. D., (1985). Binding of Insecticides to Serum Proteins in Mosquitofish (*Gambusia affinis*). Comp. Biochem. Physiol., 81C, No.1, 105-107.
- DIANA, J. S., (1982). An Experimental Analysis of the Metabolic Rate and Food utilization of Northern Pike. Comp Biochem. Physiol., 71A, 395.
- ERLAÇIN, S., (1985). Temel ilkeleri ile Biyokimya, s.249. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir,
- GABRYELAK, T. and KLEKOT, J., (1985). The Effect of Paraquat on the Peroxide Metabolism Enzymes in Erythrocytes of Freshwater Fish Species. Comp. Biochem. Physiol., 81C, No.2, 415-418.
- GEETANJALI, K., (1988). Alterations in Nitrogen Metabolism during BHC Intoxication in Fresh Water Fish *Channa punctatus*, Ph. D. Thesis, Osmania University, Hyderabad, India.
- GILL, T. S., PANDE, J. and TEWARI, H., (1991a). Individual and Combined Toxicity of Common Pesticides to Teleost *Puntius conchonius* Hamilton. Indian Journal of Experimental Biology, 29, 145-148.

- GILL, T.S., PANDE, J. and TEWARI, H., (1991b). Effects of Endosulfan on the Blood and Organ Chemistry of Freshwater Fish, *Barbus chonchonius* Hamilton. *Ecotoxicol. an Environ. Safety*, 21, 80-91.
- HEATH, A. G. ; (1987). *Water Pollution and Fish Physiology*, p. 244. CRC Press. Inc. U. S.
- HILTIBRAN, R. C., (1974). Oxygen and Phosphate Metabolism of Bluegill Liver Mitochondria in the Presence of some Insecticides. *Trans. Ill State. Acad. Sci.* 67, 228 p.
- HOLDEN, A. V., (1973). Studies on Some Aspects of Protein Metabolism and Associated Enzyme Systems in the Fresh Water Teleost, *Tilapia mossambica* (Peters) Subjected to Malathion Exposure. Ph. D. Thesis. S.V. University, Trupati, India.
- JANALIK, B. and WOHLGEMUTH, E., (1986). The Accumulation of Crimidin in Some Fish Organs. *Acta Hydrochim. Hidrobiol.* 14(1), 27-36.
- KABEER AHAMMAD SAHIB, I., RAO, K. S. P., RAO, K. R. S. S. and RAO, K. V. R., (1983). Regulation of Acidic and Basic Types of Proteins of a Teleost *Tilapia mossambica* under Sublethal Malthion Impact. *Ind. J. Fish.*, 30, 314-319.
- KEIZER, J., D'AGOSTINO, G., NAGEL, R., GRAMENZI, F. and VITTOZI, L., (1993). Comparative Diazinon Toxicity in Guppy and Zebra Fish: Different Role of Oxidative Metabolism. *Environt. Toxicol. and Chem.*, 12, 1243-250.
- KUMAR, K. and ANSARI, B. A., (1986). Malathion Toxicity: Effect on the Liver of the Fish *Brachydanio rerio* (Cyprinidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 12, 199-205.
- KOZLOVSKAYA, V. I. and MAYER, F. L., (1984). Brain Acetylcholinesterase and Backbone Collagen in Fish Intoxicated with Organophosphate Pesticides. *J. Great Lakes Res.*, 10(3), 261-266.
- KUPCHELLA, C. A. and HYLAND, M. C., (1989). *Environmental science: Living within the System of Nature*, p. 560. Allyn and Baccon. U.S.
- LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N. J. , FARR, A. L. and RANDALL, R. J., (1951). Proteins Measuraments with Folin-phenol Reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275.
- MISHRA, J. and SRIVASTAVA, A.K., (1983). Malathion Induced Hematological and Biochemical Changes in the Indian Cat Fish *Heteropneustes fossilis*. *Environmental Research*, 30, 393-398.
- MOHIDEEN, M. B. and REDDY, P.M., (1987). Changes in the Brain Protein Profiles of Freshwater Fish *Cyprinus carpio* under Malathion Stress. *Zeit. Ang. Zool.*, 74, 293-297.

- NATARAJAN, G.M., (1984). Effect of Sublethal Concentration of Metasystox on Selected Oxidative Enzymes, Tissue Respiration, and Hematology of the Freshwater Air-Breathing Fish, *Channa striatus* (Bleeker). Pesticide Biochemistry and Physiology, 21, 194-98.
- ÖZATA, A. and ATALAY, A., (1986). Metilazinfos (Insektisit) Enjeksiyonu Yapılmış Farelerin Karaciğer Hücrelerindeki İnce Yapı Değişiklikleri. Doğa TU Bio. D., 10(3), 447-451.
- ÖZCAN, E. (1994). 2,4-Diamin ve Azinphosmethyl'in *Cyprinus carpio* (L)'de Kanda, Enzim Aktiviteleri, Protein ve Glukoz ile Dokularda Protein ve Glikojenin Kantitatif Değişimine Etkileri. Ç. Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans tezi, Adana, 62 s.
- PATIL, M. and KULKARNI, R. S., (1993). Ovarian and Hepatic Biochemical Response to Sumaach (A Crude form of HCG) in Fish, *Notopterus notopterus* (Pallas) under Pesticide Treatment. Geobios 20(4) 255-259.
- PIMENTAL, D. (1971). Ecological Effects of Pesticides on Non Target Species. U. S. Government Printing Office, Washington D. C., No: 4106-0029.
- RADHAIAH, V., GIRIJA, M. and RAO, K. J., (1987). Changes in Selected Biochemical Parameters in the Kidney and Blood of the Fish, *Tilapia mossambica* (Peters), Exposed to Heptachlor. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 39, 1006-1011.
- RANI, V. J. S., VENKATESHWARLU, P. and JANAI AH, J., (1990). Impact of Sublethal Concentration of Malathion on Certain Aspects of Metabolism in Freshwater Fish *Clarias batrachus* (Linn.). Comp. Physiol. Ecol., 15(1), 13-16.
- RANKE-RYBICKE, B., (1975). Effects of Organophosphorus Pesticides on Aquatic Organism. Pocz. Pantw. Zakl. High., 26,293.
- RAO, K. P. S. KABEER AHAMMA SAHIB, I. K. and RAO, K. V. R., (1985). Methyl Parathion (O-O-Dimethyl O-4-Nitrophenyl Thiophosphate) Effects on Whole-Body and Tissue Respiration in the Teleost, *Tilapia mossambica* (Peters). Ecotoxicol. and Environ. Safety 9, 339-345.
- REDDY, P.M. and PHILIP, G. H., (1991). Hepato Toxicity of Malathion on the Protein Metabolism in *Cyprinus carpio*. Acta Hydrochim. Hydrobiol. 19 (1) 127-130.
- REDDY, A. N., VENUGOPAL, N. B. R. K. and REDDY, S.L.N., (1991). Effect of Endosulfan 35 EC on Certain Aspects of Protein Metabolism in Various Tissues of Fresh Water Field Crab, *Barytelphusa guerini*. Pesticide Biochemistry and Physiology 39, 121-129.

- RODRIGUEZ-ARIZA, A., PEINADO, J., PUEYO, C. and LOPEZ-BAREA, J., (1993). Biochemical Indicators of Oxidative Stress in Fish from Polluted Littoral Areas. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 50, 2568-2573.
- ROHLF, J. F. and SOKAL, R. R. (1969). "Statistical Tables", 253 p. W. H. Freeman and Company, San Francisco.
- SASTRY, K. V. and SIDDIQUI, A. A., (1983). Metabolik Changes in the Snake Head Fish *Channa Punctatus* Chronically Exposed to Endosulfan. *Water, Air and Soil Pollution*, 19, 133-141.
- SCOTT, A. L. and ROGERS, W. A., (1980). Histological Effects of Prolonged Sublethal Hypoxia on Channal Catfish *Ictalurus punctatus*. *J. Fish Dish.*, 3, 305.
- SHARMA, R. M., 1990. Effect of Endosulfan on acid and Alkaline Phosphatase Activity in Liver, Kidney and Muscles of *Channa gachua*. *bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 44, 443-448.
- SINGH, P.B., (1992). Impact of Malathion and γ -BHC on Lipid Metabolism in the Freshwater Female Catfish, *Heteropneustes fossilis*. *Ecotoxicol. and Environ. Safety*, 23, 22-32.
- SIWICKI, A. K., COSSARINI-DUNIER, M., MARIA, S. and DEMAEL, A., (1990). In Vivo Effect of the organophosphorus Insecticide Trichlorphon on Immune Response of Carp (*Cyprinus carpio*). *Ecotoxicol. and Environ. Safety*, 19, 99-105.
- SOKAL, R.R. and ROHLF, J. F. (1969). "Biometry", 776 p. Freeman and Company, San Francisco.
- THOMAS, P. C. and MURTHY, T. L., (1976). Studies on the Impact of a few Organic Pesticides on Certain Fish Enzymes. *Indian J. Anim. Sci.* 46(11), 619-624.
- WHO, 1986. Organophosphorus Insecticides: A General Introduction, 181p. Finland.
- YAHOLAMI, Z. and PERRY, A. S., (1981). Microsomal Mixed-Function Oxidases in Fish in Relation to Environmental Contamination by Organochlorine Insecticides. *Comp. Biochem. Physiol.*, 70C, 97-102.

TEŞEKKÜR

Öncelikle araştırmalarımı yöneten ve her türlü desteğini esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Nevin Üner'e, yakın ilgilerini gördüğüm Sayın Prof. Dr. Cahit Erdem'e, Sayın Doç. Dr. İskender Emre'ye ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Ferit Kargın'a teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Arş. Gör. Dr. Mustafa Canlı'ya, Sayın Arş. Gör. Bedii Cici'ye, Sayın Arş. Gör. Mustafa Kalay'a, Sayın Arş. Gör. Özcan Ay'a, Sayın Arş. Gör. Elif Özcan'a ve tüm Biyoloji Bölümü elemanlarına, ayrıca deneysel materyalin sağlanmasında gösterdiği kolaylık nedeniyle Adana DSI Su Ürünleri Bölümünden Biyolog Erdal Nevşat'a teşekkür ederim.



ÖZGEÇMİŞ

1969 yılında Adana'nın Karataş ilçesinde doğdum. İlk öğrenimimi Karataş Cumhuriyet İlkokulunda, orta öğrenimimi ise Adana Abdulkadir Paksoy Kız Lisesinde tamamladım. 1991 yılında Çukurova Üniversitesi, Fen-edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümünden "Biyolog" ünvanı ile mezun oldum. Aynı yıl, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tez çalışmalarına başladım.



EK TABLO 1

SOLUNGAC						BÖBREK		
PROTEİN						PROTEİN		
SÜRE (GÜN)	DERİŞİM (ppm)	TEKRAR	Yaş Ağırlık (g)	Absorbans	Protein Miktarı (mg/g y. a.)	Yaş Ağırlık (g)	Absorbans	Protein Miktarı (mg/g y. a.)
1	0,00	a	0,1456	0,67	25,49	0,0050	0,15	115,60
		b	0,1418	0,66	25,74	0,0133	0,31	115,00
		c	0,1166	0,54	25,10	0,0133	0,53	115,00
	0,20	a	0,2207	0,44	10,53	0,0234	0,22	42,78
		b	0,2806	0,60	11,72	0,0265	0,24	42,28
		c	0,3521	0,70	11,05	0,0450	0,38	43,67
	0,35	a	0,2288	0,70	17,01	0,0363	0,39	55,70
		b	0,2001	0,59	16,13	0,0349	0,38	56,27
		c	0,5236	1,10	14,87	0,0430	0,47	58,27
2	0,00	a	0,2246	0,70	17,32	0,0230	0,30	64,43
		b	0,3686	1,00	15,47	0,0440	0,52	63,80
		c	0,0890	0,30	18,00	0,0059	0,12	67,39
	0,20	a	0,2432	1,00	23,43	0,0683	0,60	49,61
		b	0,2506	1,10	25,14	0,0551	0,55	48,76
		c	0,2170	0,90	23,48	0,0750	0,65	47,87
	0,35	a	0,2443	1,10	25,79	0,0234	0,31	65,90
		b	0,1959	0,90	26,01	0,0958	1,10	65,77
		c	0,3557	1,35	21,95	0,0621	0,70	62,67

EK TABLO 1

SOLUNGAC						BÖBREK		
PROTEİN						PROTEİN		
SÜRE (GÜN)	DERİŞİM (ppm)	TEKRAR	Yaş Ağırlık (g)	Absorbans	Protein Miktarı (mg/g y. a.)	Yaş Ağırlık (g)	Absorbans	Protein Miktarı (mg/g y. a.)
3	0,00	a	0,5781	1,20	11,94	0,0484	0,50	55,50
		b	0,5108	1,19	13,39	0,0494	0,52	56,83
		c	0,7130	1,25	10,10	0,0462	0,48	55,54
	0,20	a	0,3082	0,85	15,55	0,0967	0,86	50,20
		b	0,2317	0,68	16,28	0,0784	0,71	50,41
		c	0,2597	0,71	15,22	0,0730	0,66	50,01
	0,35	a	0,3374	1,20	20,46	0,0665	0,68	56,71
		b	0,2409	0,90	21,16	0,0999	1,00	57,04
		c	0,3090	1,10	20,39	0,0906	0,85	52,93
4	0,00	a	0,3286	0,90	15,51	0,1164	1,35	65,51
		b	0,3626	1,10	17,37	0,1130	1,30	66,42
		c	0,3432	1,05	17,48	0,0982	1,10	64,16
	0,20	a	0,3975	1,10	15,85	0,1004	1,00	56,76
		b	0,3002	1,00	18,98	0,0802	0,80	56,03
		c	0,4780	1,20	14,44	0,0945	0,95	57,11
	0,35	a	0,5441	1,40	14,90	0,1212	1,20	58,96
		b	0,1710	0,52	16,42	0,0868	0,90	58,70
		c	0,5642	1,50	15,44	0,0719	0,80	62,50

EK TABLO 1

SOLUNGAC						BÖBREK		
PROTEİN						PROTEİN		
SÜRE (GÜN)	DERİŞİM (ppm)	TEKRAR	Yaş Ağırlık (g)	Absorbans	Protein Miktarı (mg/g y. a.)	Yaş Ağırlık (g)	Absorbans	Protein Miktarı (mg/g y. a.)
15	0,00	a	0,1313	0,76	32,39	0,0268	0,46	91,26
		b	0,1365	0,78	32,04	0,0600	0,98	92,97
		c	0,1634	0,90	31,18	0,0269	0,47	93,16
	0,20	a	0,2680	1,20	25,76	0,1620	1,00	35,18
		b	0,2550	1,00	22,35	0,0550	0,40	37,89
		c	0,1880	0,68	20,05	0,0650	0,48	39,48
	0,35	a	0,2080	1,20	33,19	0,0210	0,30	70,57
		b	0,2870	1,40	28,25	0,0550	0,75	69,88
		c	0,2370	0,30	31,67	0,0650	0,70	67,09
30	0,00	a	0,2404	1,00	23,71	0,0466	0,54	62,82
		b	0,2089	0,86	23,24	0,0703	0,76	60,49
		c	0,2932	1,20	25,54	0,1079	0,20	63,98
	0,20	a	0,2380	1,10	26,47	0,0127	0,27	102,45
		b	0,2136	1,00	26,68	0,0268	0,51	102,49
		c	0,1851	0,88	26,88	0,0190	0,38	103,36
	0,35	a	0,2067	0,82	22,32	0,0197	0,32	81,34
		b	0,2408	1,1	26,17	0,0257	0,40	81,10
		c	0,2161	1,05	27,76	0,0190	0,31	81,16

EK TABLO 2

BEYİN						DALAK		
PROTEİN						PROTEİN		
SÜRE (GÜN)	DERİŞİM (ppm)	TEKRAR	Yaş Ağırlık (g)	Absorbans	Protein Miktarı (mg/g y. a.)	Yaş Ağırlık (g)	Absorbans	Protein Miktarı (mg/g y. a.)
1	0,00	a	0,095	0,19	94,86	0,0189	0,25	65,59
		b	0,1306	0,24	94,00	0,0084	0,14	61,67
		c	0,1184	0,23	98,50	0,0125	0,18	60,72
	0,20	a	0,1858	0,95	29,05	0,0244	0,25	48,39
		b	0,1590	0,80	28,26	0,0150	0,17	46,56
		c	0,1819	0,95	28,02	0,0212	0,22	47,17
	0,35	a	0,1479	0,90	34,46	0,0225	0,30	65,86
		b	0,1352	0,85	35,47	0,0375	0,47	66,83
		c	0,1804	1,10	34,92	0,0269	0,35	66,29
2	0,00	a	0,2441	1,20	28,81	0,0408	0,90	110,14
		b	0,1175	0,60	27,99	0,0234	0,48	109,67
		c	0,1770	0,90	28,79	0,0220	0,45	108,43
	0,20	a	0,1357	0,40	153,99	0,0265	0,47	94,57
		b	0,1060	0,30	156,85	0,0309	0,65	96,69
		c	0,1773	0,50	151,54	0,0471	0,80	95,41
	0,35	a	0,1290	0,25	91,53	0,0183	0,29	77,69
		b	0,1207	0,24	92,83	0,0665	0,85	72,11
		c	0,1346	0,26	92,19	0,0354	0,45	73,63

EK TABLO 2

BEYİN						DALAK		
PROTEİN						PROTEİN		
SÜRE (GÜN)	DERİŞİM (ppm)	TEKRAR	Yaş Ağırlık (g)	Absorbans	Protein Miktarı (mg/g y. a.)	Yaş Ağırlık (g)	Absorbans	Protein Miktarı (mg/g y. a.)
3	0,00	a	0,2779	1,30	27,01	0,0470	0,35	37,94
		b	0,1776	0,85	26,99	0,0391	0,30	37,90
		c	0,1757	0,84	26,95	0,0637	0,45	37,44
	0,20	a	0,1392	0,85	34,45	0,0348	0,43	65,08
		b	0,1630	0,95	33,11	0,0312	0,39	64,87
		c	0,1404	0,86	34,58	0,0362	0,44	64,27
	0,35	a	0,1305	0,60	25,20	0,0331	0,42	66,61
		b	0,2308	1,00	24,69	0,0556	0,67	66,74
		c	0,1842	0,80	24,39	0,0575	0,68	65,58
4	0,00	a	0,1948	1,25	36,98	0,0361	0,46	67,75
		b	0,2168	1,27	33,79	0,0493	0,62	69,16
		c	0,1933	1,10	32,60	0,0377	0,48	68,07
	0,20	a	0,2230	1,11	28,25	0,0500	0,68	75,42
		b	0,1776	0,96	30,73	0,0214	0,31	72,06
		c	0,2262	1,20	30,52	0,0259	0,38	75,82
	0,35	a	0,2266	1,20	30,12	0,0310	0,51	88,01
		b	0,2620	1,30	28,65	0,0329	0,53	87,15
		c	0,1584	0,90	32,17	0,2420	0,40	86,12

EK TABLO 2

BEYİN						DALAK		
PROTEİN						PROTEİN		
SÜRE (GÜN)	DERİŞİM (ppm)	TEKRAR	Yaş Ağırlık (g)	Absorbans	Protein Miktarı (mg/g y. a.)	Yaş Ağırlık (g)	Absorbans	Protein Miktarı (mg/g y. a.)
15	0,00	a	0,1230	0,85	38,99	0,0178	0,35	100,17
		b	0,1387	0,95	38,91	0,0168	0,33	98,97
		c	0,1740	1,20	39,68	0,0168	0,24	103,75
	0,20	a	0,2450	1,00	23,26	0,0470	0,50	57,16
		b	0,1000	0,50	26,87	0,0340	0,38	57,76
		c	0,1400	0,60	23,49	0,0300	0,34	57,43
	0,35	a	0,0420	0,40	49,63	0,0200	0,26	62,05
		b	0,1270	1,20	54,36	0,0200	0,26	62,05
		c	0,1480	1,40	54,79	0,0580	0,65	61,90
30	0,00	a	0,1524	0,90	33,44	0,0230	0,38	85,88
		b	0,1142	0,71	34,60	0,0432	0,65	87,29
		c	0,1882	1,00	30,28	0,1750	0,31	88,12
	0,20	a	0,0635	0,42	34,72	0,0054	0,14	95,93
		b	0,1237	0,75	33,89	0,0120	0,25	98,00
		c	0,1605	0,95	33,63	0,0120	0,26	98,39
	0,35	a	0,1037	0,60	31,74	0,0025	0,10	110,84
		b	0,1118	0,64	35,53	0,0036	0,12	110,44
		c	0,1440	0,80	31,20	0,0193	0,40	107,99