



**MALATHİON' UN PULLU SAZAN (*Cyprinus carpio*
LİNNAEUS, 1758)' DA PARAOKSONAZ VE
ARİLESTERAZ ENZİM AKTİVİTELERİNE ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Su Ürünleri Müh. Tuğçe KILIÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. M. Enis YONAR

ARALIK-2016

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MALATHİON' UN PULLU SAZAN (*CYPRINUS CARPIO* LINNAEUS, 1758)' DA
PARAOKSONAZ VE ARİLESTERAZ ENZİM AKTİVİTELERİNE ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Su Ürünleri Müh. Tuğçe KILIÇ
(122128102)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 28 Kasım 2016

Tezin Savunulduğu Tarih : 15 Aralık 2016

Tez Danışmanı: Doç. Dr. M. Enis YONAR

Tez Jüri Üyeleri: Prof. Dr. Sibel KÖPRÜCÜ

Yrd. Doç. Dr. Ünal İSPİR

ARALIK-2016

ÖNSÖZ

Bu çalışmanın hazırlanması ve yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen çok değerli danışman hocam sayın Doç. Dr. Muhammet Enis YONAR'a, araştırmanın yapılabilmesi için gerekli altyapıyı sunan F.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Dekanlığı'na ve Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü'ne, çalışmayı maddi yönden destekleyen Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) Yönetim Birimi'ne teşekkür ederim.

Bunun yanında çalışmamın bütün aşamalarında desteğini her zaman yanımda hissettiğim değerli eşim ve tüm aile fertlerime sonsuz şükranlarımı sunarım.

Tuğçe KILIÇ
ELAZIĞ- 2016

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER	II
ÖZET	IV
SUMMARY	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VI
TABLolar LİSTESİ	VII
1. GİRİŞ	1
1.1 Literatür Bilgisi	2
1.1.1. Pestisitler.....	2
1.1.1.1 Pestisitlerin Sınıflandırılması	4
1.1.1.2. Pestisitlerin Yayılımı	6
1.1.2. Malathion	6
1.1.2.1. Malathionun Etki Mekanizması	9
1.1.3. Paraoksanaz ve Arilesteraz	9
1.1.3.1. PON' un Fonksiyonları	11
2. MATERYAL ve METOT	13
2.1. Materyal	13
2.1.1. Çalışma Alanı	13
2.1.2. Balık	14
2.1.3. Malathion	14
2.1.4. Araştırmada Kullanılan Araç-Gereçler ve Kimyasal Maddeler	14
2.2. Metot	16
2.2.1. Deneysel Plan	16
2.2.2. Örneklerin Alınması ve İşlenmesi	16
2.2.3. Karaciğer Örneklerinden Homojenatların Hazırlanması	17
2.2.4. PON ve ARE Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi	17
2.2.5. İstatistiksel Analizler	17
3. BULGULAR	18
3.1. PON Enzim Aktivitesindeki Değişimler	18
3.2. ARE Enzim Aktivitesindeki Değişimler	21
4. TARTIŞMA	25

5.	SONUÇ ve ÖNERİLER	29
6.	KAYNAKLAR	30
	ÖZGEÇMİŞ	35



ÖZET

Bu çalışmada, pullu sazan (*Cyprinus carpio*)'a farklı konsantrasyonlarda uygulanan malathionun paraoksonaz (PON) ve arilesteraz (ARE) enzim aktivitelerine etkisinin ortaya çıkarılması amaçlandı. Bunun için malathionun letal konsantrasyon (LC_{50}) değerinin 1/2'si 1/4'ü ve 1/8'i üç deneme grubuna 21 gün süreyle uygulandı. Malathion uygulanan ve kontrol grubundaki balıklardan 7., 14., ve 21. günlerde serum ve karaciğer örnekleri alındı. Alınan örneklerde PON ve ARE enzim aktivitelerindeki değişimler belirlendi.

Malathion uygulanan grupların serum ve karaciğerindeki PON ve ARE enzim aktiviteleri kontrol grubuna kıyasla azaldı ($p < 0.05$). Bu azalma 7. ve 14. günlerde kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı bulundu ($p < 0.05$). 21. günde ise bu aktivitelerde herhangi bir fark bulunmadı ($p > 0.05$).

Anahtar Kelimeler: Arilesteraz, *Cyprinus carpio*, Enzim, Malathion, Paraoksonaz, Pestisit, Sazan.

SUMMARY

Investigation of Effect of Malathion on Paraoxonase and Arylesterase Enzyme Activities in Scaly Carp (*Cyprinus Carpio* Linnaeus, 1758)

In this study, it was aimed to reveal the effects on paraoxonase (PON) and arylesterase (ARE) enzyme activities of malathion applied in different concentrations in scaly carp (*Cyprinus carpio*). For this purpose, 1/2, 1/4 and 1/8 of LC50 concentration value of malathion were exposed to three experimental groups for 21 days. Serum and liver samples on 7, 14 and 21 days collected from fish in the control group and experimental groups which exposed to malathion. Changes in the PON and ARE enzyme activities were determined in the serum and liver samples which collected from fish.

The PON and ARE activities in the serum and liver decreased in the groups exposed to malathion compared to that of the control group ($p < 0.05$). This reduction was statistically different from the control group on 7 and 14 days ($p < 0.05$). There was no difference in these activities on 21 day ($p > 0.05$).

Key words: Arylesterase, Carp, *Cyprinus carpio*, Enzyme, Malathion, Pesticide, Paraoxonase.

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. Malathionun kimyasal yapısı	7
Şekil 1.2. Paraoksonazın A) paraoksonu, B) fenil asetatı hidrolizi.....	10
Şekil 2.1. Çalışmada kullanılan balık ve akvaryumlar	13
Şekil 3.1. Kontrol ve deneme grubu balıklarının serum PON enzim aktivitesindeki zamana bağlı değişimler	19
Şekil 3.2. Kontrol ve deneme grubu balıklarının karaciğer dokusunda PON enzim aktivitesindeki zamana bağlı değişimler	21
Şekil 3.3. Kontrol ve deneme grubu balıklarının serum ARE enzim aktivitesindeki zamana bağlı değişimler.....	23
Şekil 3.4. Kontrol ve deneme grubu balıklarının karaciğer ARE enzim aktivitesindeki zamana bağlı değişimler	24

TABLÖLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Araştırmada kullanılan kimyasal maddeler	14
Tablo 2.2. Araştırmada kullanılan araç ve gereçler	15
Tablo 3.1. Kontrol ve deneme grubu balıklarının serum PON enzim aktivitesindeki zamana bağlı değişimler	19
Tablo 3.2. Kontrol ve deneme grubu balıklarının karaciğer PON enzim aktivitesindeki zamana bağlı değişimler	20
Tablo 3.3. Kontrol ve deneme grubu balıklarının serum ARE enzim aktivitesindeki zamana bağlı değişimler.....	22
Tablo 3.4. Kontrol ve deneme grubu balıklarının karaciğer ARE enzim aktivitesindeki zamana bağlı değişimler	24

1. GİRİŞ

Bakteriler, mantarlar, bitkiler, böcekler ve diğer organizmalar çevrenin doğal bir parçasıdır ve bazıları birçok yolla fayda sağlamakta bazıları ise zararlı olmaktadır. Özellikle tarım sektöründe zararlıların kontrol altına alınması için çaba harcanmaktadır. Bu zararlıları yok edebilmek için kullanılan en yaygın yöntemlerden biri pestisit kullanımıdır. Pestisit, EPA (Environmental Protection Agency, Avrupa Çevre Koruma Örgütü) tarafından herhangi bir zararlıyı baskılamak, azaltmak, bozmak ya da uzaklaştırmak amacıyla kullanılan madde veya madde karışımı olarak tanımlanmaktadır (Yavuz Kocaman, 2007).

Tarımsal endüstrinin gelişmesi ile aynı alandan yıl boyunca ürün elde edilmesine olanak sağlanırken, bu durum sulak alanları olumsuz etkilemektedir. Tarımsal mücadele amacıyla kullanılan pestisitler, tüm dünyada önemli çevre kirleticileri arasındadırlar. Pestisitlerin, tarımsal üretimin artırılması yönündeki faydaları anlaşıldıkça kullanımı daha yaygın hale gelmektedir. Pestisitlerin hemen hemen tamamı akuatik yaşam için oldukça tehlikelidir. Akuatik ortamlarda pestisit kirliliği, yağmur sularının pestisitleri tarımsal alanlardan akuatik ortamlara taşınmasıyla veya pestisitlerin hava koşullarına bağlı olarak taşınmasıyla gerçekleşmektedir. Bununla birlikte pestisitler evsel ve endüstriyel uygulamalardan sonra yüzey akıntıları veya drenaj kanalları aracılığıyla da havuz, göl ya da nehir gibi büyük su kütlelerine ulaşırlar ve burada suyun kalitesini olumsuz yönde değiştirirler (Atamanalp ve Cengiz, 2002). Pestisitler balıklarda sadece ölümlere yol açmaz, aynı zamanda deride özellikle baş bölgesinde, yüzgeçlerde, yutakta ve vücutta kanamalara, fazla mukus salgısına, solungaçlarda hiperemi, hemoraji ve yangıya neden olurlar. Ayrıca zayıflama, durgunluk, iştahsızlık, yüzmede bozukluk, kan tablosunda değişiklik, bağırsaklarda hemoraji ve hiperemi gibi bozukluklar da meydana getirirler (Arda vd, 2005). Diğer taraftan pestisitler balık vücudunda birikerek insanlara kadar ulaşabilmektedirler (Atamanalp ve Yanık, 2001; Karasu Benli ve Gülen, 2009).

Günümüzde kullanılan pestisitlerin büyük bir kısmı organofosfatlı, karbamatlı ve sentetik piretroid bileşikler şeklindedir. Organofosfatlı pestisitler 1930'lu yıllarda Almanya'da kimyasal savaş ajanları olarak üretilmiş, çevrede hızlı çözünme özellikleri nedeniyle dünya çapında en yaygın olarak kullanılan insektisid grubunu oluşturmuştur. Bu özellik organofosfatlı pestisitlere önemli bir avantaj sağlamasına karşın, genellikle hedef organizma spesifiklikleri çok düşük ve hedef olmayan birçok omurgalı ve omurgasız türüne karşı yüksek akut toksisiteye sahip olduğu için birçok karasal ve akuatik organizma

çevredeki bu bileşiklerden oldukça etkilenebilmektedir (Fulton ve Key, 2001). Nanogram düzeyindeki çok düşük derişimlerde bile akuatik omurgalı ve omurgasızlarda toksik etkiler oluşturabilen organofosfatlı pestisitlere karşı balıklar çok duyarlıdır (Hai vd., 1997). Malathion; tarımda ve günlük yaşamda böcekleri öldürmek amacıyla yaygın olarak kullanılan bir insektisittir. Yararları yanında çeşitli nedenlerle insanlara ve tüm ekosisteme zararlı olabilen bu ürünün istenmeyen en önemli etkisi zehirlenmelerdir (Tuğyan vd., 2005).

Paraoksonaz ve arilesteraz, aynı gen tarafından kodlanan ve aktif merkezleri benzer olan esteraz grubundaki enzimlerdir. Paraoksonaz (PON1, E.C.3.1.8.1) enzimi ilk olarak 1953 yılında Aldridge tarafından insan kan serumunda bulunmuştur (Mackness vd., 1987). 1996 yılında, paraoksonaz aktivitesinden sorumlu genin bir multigen ailesinin üyesi olduğu tespit edilmiş ve sırasıyla PON1, PON2 ve PON3 olarak isimlendirilmiştir. Paraoksonaz, hem arilesteraz (E.C.3.1.1.2) hem de paraoksonaz aktivitesine sahip, glikoprotein yapısında olan kalsiyum bağımlı bir ester hidrolaz enzimidir (Gan, 1991; Li vd., 1993; Mackness vd., 1996; Mackness vd., 1997; Azarsız ve Sönmez, 2000; Gürsu ve Özdin, 2002; Özdin ve Gürsu, 2003).

Paraoksonaz enziminin organofosfatlı bileşiklerin hidrolizini katalizlemesi toksikolojik çalışmalar için büyük önem taşıdığından, bu tez çalışmasında organofosfatlı bir pestisit olan malathion' un uygulandığı pullu sazan (*Cyrinus carpio*)'da paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerinde meydana gelen değişimlerin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

Bu tez çalışması; Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi (FÜBAP) tarafından SÜF.16.05. nolu proje olarak desteklenmiştir.

1.1. Literatür Bilgisi

1.1.1. Pestisitler

Pestisit, tarım ürünlerinde veya hayvansal gıdalarda üretim, hasat, depolama ve taşıma esnasında zarara neden olan ve bunun sonucunda değerinin azalmasına yol açan "pest" adı verilen herhangi bir zararlıya (yabancı otlar dahil) karşı kullanılan madde veya maddeler karışımıdır (Bakal, 2010; Erdağ, 2012). Pestisitler sorun yaratan böcekler, hayvanlar, mikroorganizmalar, yabancı otlar ve diğer zararlıların ölmesini ya da

davranışlarını değiştirmesini sağlayan biyolojik olarak aktif kimyasallardır (Güler ve Çobanoğlu, 1997).

Pestisit, kimyasal bir madde olabileceği gibi, biyolojik bir ajan, antimikrobikyal veya dezenfektan ya da herhangi bir araç da olabilir. Pestisit benzeri maddeler, pestisit gibi kullanılan veya bir kısmı bu kapsama giren biyopreparatlar, böcek ve bitki gelişim düzenleyicileri, feromonlar (hormon taşıyan) ve diğer cezbediciler, beslenmeyi engelleyiciler, repellentler (böcek uzaklaştırıcı ilaçlar), tuzaklar, bitki aktivatörleri, fizyolojik hastalıkların tedavisinde kullanılan preparatlar ve benzeri maddelerdir (Anonim, 2012).

Pestisitler zararlı organizmaları engellemek, kontrol altına almak ya da zararlarını azaltmak amacıyla kullanılmakta ve sonuç olarak ürünlerin kullanım sürelerini uzatmaktadır (Anonim, 2012). Bu durum pestisit kullanımının temel amacını oluşturmaktadır. Diğer taraftan pestisitlerin yaygın kullanılmalarının ana nedenlerinden biri de dünya nüfusundaki artış ve buna bağlı olarak tarım alanlarından ekonomik olarak daha fazla kar elde etme isteğidir. Bu açıdan bakıldığında pestisitler ekonomik yönden oldukça önemlidirler. Tarımsal ürünlerin bozulma ve kaybını önleyerek yetiştiriciye ekonomik anlamda bir katkı sağlarlar. Bu nedenle pestisitler aynı zamanda ekonomik zehirler grubuna alınmış ve ekonomik toksikoloji içerisinde de incelenmektedir. Pestisitler yalnızca tarımsal üretimde artış ve korumaya neden olmaz, aynı zamanda pestlerle taşınan hastalıkların oranını da düşürürler. Çok sayıda hastalık pestisit uygulamaları ile kontrol altına alınabilmektedir. Bu bakımdan hem halk sağlığının hem de besinlerin korunmasına yardımcı olurlar. Ancak, yanlış doz ve uygulama süresi ile çeşitli alanlarda kullanılmaları çevre sağlığı açısından büyük bir dezavantaj oluşturmaktadır. Uygulanmaları esnasında gereken özen gösterilmediği takdirde su, toprak, hava ve besin kirlenmesine yol açarak, ekolojik dengenin bozulmasına yol açarlar. Bu bağlamda özellikle çevredeki kalıntıları oldukça önemlidir. Her pestisitinin çevredeki parçalanma yarı ömrü değişiktir (Erdağ, 2012).

Bir maddenin pestisit olarak kullanılabilmesi için biyolojik olarak aktif, etkili, ucuz ve güvenilir, kolay uygulanabilen, yeteri kadar kararlı, hedef canlıya spesifik olarak toksik ve çevre için kabul edilebilir olmalı ve ayrıca kolayca toksik olmayan maddelere dönüşebilmelidir (Anonim, 2012).

1.1.1.1. Pestisitlerin Sınıflandırması

Pestisitler farklı şekillerde sınıflandırılmaktadır. Kullanıldıkları zararlı grubuna, kimyasal formülüne, etki şekline, kullanım tekniğine, pestisit fiziksel haline, zararlının biyolojik durumuna, kontrol ettiği zararlının bulunduğu yer ve konakçı durumuna ve bileşimindeki ekili madde grubuna göre sınıflandırılabilirler.

Kullanıldıkları zararlı grubuna göre şu şekilde sınıflandırılırlar (Uslu ve Türkman, 1987).

1. İnsektisitler: Böcek öldürücüler, (karıncalar, böcekler, tırtıllar, hamam böcekleri, sivrisinekler vb)
2. Herbisitler : Ot öldürücüler (yabani otlar, bitkiler, yosunlar)
3. Fungisitler : Mantar öldürücüler (bitkisel hastalık mantarları, diğer mantar cinsleri vb)
4. Akarisitler : Akar öldürücüler (Keneler, halı böcekleri, toz böcekleri vb)
5. Rodentisitler : Fare öldürücüler, kemirici öldürücüler.
6. Pisisitler : Balık öldürücüler
7. Avisitler : Kuş Öldürücüler
8. Mollusisitler : Yumuşakça öldürücüler
9. Nematisitler : Nematodları öldürenler
10. Algisitler: Alg öldürücüler

Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (United States Environmental Protection Agency = EPA) pestisitleri işlevlerine göre sınıflandırmaktadır (Güler ve Çobanoğlu, 1997):

1. Yaprak dökücüler (defoliant): Bitkilerin yaprağını dökerek etkileyenler
2. Kurutucular (dessicants): Bitkileri kurutucu etki yapanlar
3. Dezenfektanlar: Mikroorganizmaları etkisiz hale getirenler
4. Kaçınıncılar (repellent): Böcek ve kuşları kaçıranlar
5. Çekiciler (pheromonlar, yemler vb): Böcekleri onları yok edecek sisteme doğru çekenler ve yönlendirenler
6. Kısırlık yapan kimyasallar (kemosterilantlar): Böceklerde kısırlaştırıcı etki yapanlar
7. Büyüme düzenleyicileri: Böcek veya bitkilerin büyümelerini geciktirenler veya hızlandıranlar.

Pestisitler kullanımlarına göre tarımsal kullanım ve tarımsal olmayan kullanım şeklinde de sınıflandırılır. Ayrıca pestisitleri halk sağlığı, yapısal, endüstriyel, evsel ve bahçe pestisitleri olarak sınıflandırabilirler. Pestisitler kalıcılıklarına göre; kalıcı

olmayanlar (birkaç günden-12 haftaya kadar etkisini sürdürenler), orta derecede kalıcı olanlar (1-18 ay arasında dayanabilenler), kalıcı olanlar (DT, aldrin, dieldrin gibi maddeler 20 yıl kadar dayanabilmektedir) ve sürekli kalıcılar (Civa, kurşun, arsenik) şeklinde sınıflandırılırlar. Etki ettikleri gelişim evrelerine göre ise pestisitler; larvisit (larvaları öldüren), ovisit (yumurtaları öldüren), adlutsit (erişkin böcekleri öldürenler) olarak da ayrılabilirler (Güler ve Çobanoğlu, 1997).

Pestisitler bileşimindeki etkili madde grubuna göre ise klorlandırılmış hidrokarbonlar, organik fosforlu pestisitler, karbamatlı insektisitler ve pyrethroid (Piretroit) insektisitler olmak üzere 4 şekilde sınıflandırılırlar (Anonim, 2012).

Klorlandırılmış hidrokarbonların yapısında, karbon, hidrojen ve klor atomları bulunur. 1940'lı yıllarda böcek öldürücü olarak kullanıma giren bu ilaçlar günümüzde önemini kaybetmiştir (Uslu ve Türkman, 1987).

Dünyada pestisit tüketiminin yaklaşık % 45'ini oluşturan organik fosforlu pestisitlerin sentezlenmelerinin kolay olması bu bileşiklerin çeşitlenmesine yol açmıştır. Grup içerisindeki etken maddelerin buharlaşma, suda çözünme, kalıcılık, sıcakkanlılara zehirlilikleri gibi fiziko-kimyasal özellikleri dikkate değer farklılık gösterdiği için, hemen hemen her zararluya uygun özellikte organik fosforlu bir etken madde bulunabilmektedir. Yol açtıkları asetilkolin artışı parasempatik sistemin aşırı çalışmasına, kalbin uyarılmasına bağlı olarak kan basıncının yükselmesine, çizgili kas kasılmasına, kaslarda hissizlik ve felce sebep olabilirler (Can Demirdöğen, 2010; Anonim, 2012; Özay ve Arslantaş, 2016).

Organik fosforlu insektisitlere göre daha küçük bir sınıf oluşturan karbamatlı insektisitler karbamik asit esterleridirler. Calabar fasulyesinden sentezi yapılarak Neostigmine ya da kimyasal olarak N,N-dimethyl carbamate olarak isimlendirilir. Organik fosforlu insektisitler gibi kimyasal olarak asetilkolinesteraz enzimine bağlanmalarına rağmen, bunu farklı bir şekilde yaparlar (Güley ve Vural, 1978; Özkaya vd., 2013).

Son grubu oluşturan pyrethroid (piretroit) insektisitler son yıllarda çok önem kazanmıştır. Pyrethrum cinsine ait belirli türlerin çiçeklerinin öğütülmesi ile elde edilen piretrum ekstraktından elde edilirler. Doğal piretrumların geniş spektrumlu olmaları, memelilere karşı zehirliliklerinin düşük düzeyde olması ve doğal koşullarda kısa sürede dekompoze olmaları avantajlı yönlerini oluşturur. Ancak, kolay bozulmaları, üretim maliyetinin oldukça yüksek olması, üretiminin sürekliliğindeki zorluklar doğal piretroitlerin dezavantajlı tarafını oluşturur. Sentetik piretroitler ise ışığa dayanıklı ve kalıntı etkisi yüksek insektisitler olarak tarımda geniş kullanım alanı bulurlar. İnsanlar

üzerindeki toksisiteyi düşüktür, ancak zehirlenme belirtileri organik fosforlu bileşiklerle karıştırılabilir. Etkilerini sodyum kanallarının geçirgenliği üzerinden gösterirler ve bu etkiye böcekler memelilere göre çok daha fazla duyarlıdır. Diğer taraftan memelilerde metabolizmasının hızlı olması ve dermal absorpsiyonlarının az olması bu insektisitlerin toksik etkilerini azaltıcı diğer faktörlerdir (Anonim, 2012; Özkaya vd., 2013).

1.1.1.2. Pestisitlerin Yayılımı

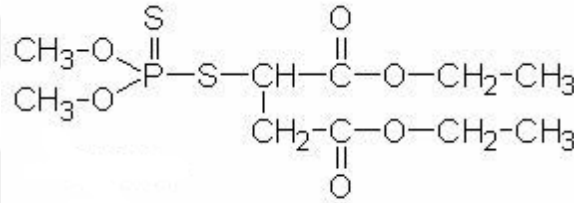
Pestisitler uygulandıkları alanlardan fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak rüzgar, yağmur gibi etkenlerle başka yerlere geçerek çevre sorunlarına neden olabilirler. Pestisitler hava, su, yiyecek ve toprak aracılığıyla ortama yayılırlar. Bir kısmı buharlaşarak atmosferde kalıcı toksik madde birikimine sebep olabilirken, bir kısmı ise fotokimyasal yolla parçalanarak toksik veya toksik olmayan maddelere dönüşebilirler. Diğer bir bölümü de toprakta tutularak toprağı kirletmekte ve toprak içinde kimyasal ve mikrobiyolojik parçalanma tepkimeleri geçirebilmektedir. Bir kısmı ise yağmur, sel ve kar suları aracılığıyla topraktan nehir, göl ve deniz sularına geçerek buraları kirletmektedir. Tarımda pestisitlerin kullanılması nedeniyle hava, toprak ve su zamanla kirletilmekte, bu sebeple pestisitler doğal besin zincirinde yer alan tüm canlıların hayatını tehdit etmektedir (Yavuz Erdoğan, 2010).

1.1.2. Malathion

Malathion O,O-dimethyl-S-(1,2-dicarbethoxyethyl) phosphorodithioate kimyasal formülüne sahip tarım ürünlerinin korunmasında ve halk sağlığında çeşitli böceklerle karşı çok yaygın kullanımı olan, balıklarda yüksek derecede toksisiteye sahip organik fosforlu bir insektisittir (Öztürk, 2009; Erdağ, 2012). Malathionun memeli hayvanlar ve insanlar için zehirliliği düşük ancak bit, pire ve kene gibi dış parazit çeşitleri ile havyan barınaklarında yaşayan çeşitli sineklerde toksisitesi yüksektir. Yapısında kolayca hidrolize olabilen karboksil gruplarının bulunması nedeniyle toksisitesinin düşüktür ve bu sonucu olarak memeli hayvanlar ve insanlarda yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bu hidrolizasyon ilacın vücutta daha kolay parçalanmasına yol açar. Çevredeki dayanıklılığı yüksek olup, doğada birkaç günden birkaç aya kadar kalabilme özelliğine sahiptir (Erdağ, 2012).

Malathion, lipofilik özelliğinden dolayı vücuda kolayca girer. Sindirim kanalı, deri, akciğer ve mukozalardan hızlı ve iyi bir biçimde emilir. Organizmada önemli ölçülerde metabolize edilir. Vücudu idrar safra ve solunum yoluyla terk eder. Nadir olarak değişmeden ya da daha çok dimetiltiyofosfat metabolitleri halinde atılmaktadır. Malathion, karaciğer ve böbrekte yoğun şekilde birikir. Vücutta başlıca karaciğerde sitokrom P-450 enzimi ile yıkımlanır (Kaya vd., 2002; Erdağ, 2012; Ermiş, 2014).

Ürün formülü tozlar, emülsiyon şeklinde konsantre, eriyebilen çeşitli toz ve solüsyonlar şeklindedir. Malathionun kimyasal formülü $C_{10}H_{19}O_6PS_2$ şeklindedir. Kimyasal yapısı şekil 1.1’de gösterilmiştir (Bakal, 2010).



Şekil 1.1. Malathionun kimyasal yapısı (Bakal, 2010).

Molekülün erime sıcaklığı 2.85 °C ve kaynama noktası 156-157 °C dir. Bu nedenle oda ısısında sıvı halde bulunur ve ısının etkisiyle kısmen de olsa buharlaşarak ortamın havasının kirlenmesine neden olur. Normal şartlarda renksiz ya da hafif sarımtırak renkte olup, kokarca ile sarımsak kokusunu andıran bir kokuya sahiptir (Ermiş, 2014). Moleküler ağırlığı 330,36 ve sudaki çözünürlüğü 0,0145 g/100 ml' dir. Birçok organik çözücünde çözünebilirken, petrol yağlarında ve alifatik hidrokarbonlarda sınırlı çözünürlüğü vardır. Malathion sistemik olmayan bir akarisit ve insektisit özelliğindedir. Türkiye' de çok geniş kullanım alanına sahip olan malathionun toprakta, düşük kalıcılığa sahip olduğu ancak toprakta kalma süresinin de toprağın bir araya getirme (bağlama) derecesi ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir. Malathion suda tamamen eriyebildiği ve verimli topraklarda son derece hareketli olduğundan yeryüzü suları için olası bir tehdit oluşturmaktadır. Malathionun atmosfere bırakılması sonucu güneş ışığında bozulabileceği ve bu bozulmanın yaklaşık 1,5 gün olduğu rapor edilmiştir. Irmak suyunda yarılanma durumu bir haftadan az olup, damıtılmış suda üç hafta sabit kalabilmektedir (Bakal, 2010). Hava ve güneş ışığının etkisiyle hızla parçalanır. Diğer insektisitlere göre doğada kalıcılığı daha

kısa olan bir maddedir. Kalıcı etkisi kısa olan malathionun topraktaki parçalanma süresi yaklaşık 1-25 gün arasındadır. Bulunduğu sularda tuzluluk parçalanma hızını arttırırken, göl sularında 1 hafta, damıtık sularda 3 hafta gibi bir yarılanma ömrüne sahiptir (Ermiş, 2014).

Metabolizma sonucu biyoaktivasyona uğrar. Ortaya çıkan metabolit vücuda girdiğinde düşük toksisitesi gösteren malathiondan daha toksik olan malaoksondur ve bu metabolit tekrar biyotransformasyona uğrar. Bu metabolitin detoksikasyon ürünü dimetiltiyofosfat (DMTP)'tır. Yani malaoksan hem metilasyona hem de tiyol grupları ile konjugasyona uğrar (Erdağ, 2012). Bu nedenle vücutta malathion biyoaktivasyona uğrayan bir maddedir. Bu oksidasyonda P-450 monooksijenazların önemli bir rolü olduğu söylenebilir (Ermiş, 2014). Malathionun böcekler toksik olduğu halde, memelilerde toksisitesinin çok düşük olması, bu iki türde farklı biyotransformasyona uğramamasındadır. Her iki türde de biyotransformasyon yolları aynı fakat hızları farklıdır. Memelilerde karboksiesteraz aktivitesi yüksek olduğu için, malathion ve malaokson, hidrolizle çabuk inaktif hale geçer. Böceklerde ise hidroliz olayı düşük esteraz aktivitesi nedeni ile çok yavaştır. Bu nedenle malaokson (asıl toksik metabolit) birikimi olacaktır. Karboksiesterazlar, karboksilik asit içeren malathionu hidroliz ederek inaktive ederler. Bu enzimin bulunması memelilerde toleransı, bazı böcek türlerinde ise rezistansı sağlar (Bakal, 2010).

Malathion bileşiğinin kanserojen etkinliği tam olarak bilinmemektedir. Yapılan çalışmalarda karsinojenik olduğu düşünülmekle birlikte elde edilen verilere göre Environmental Protection Agency (EPA) tarafından "karsinojenite açısından anlamlı kanıtları olmasına rağmen insanda karsinojenik potansiyelini değerlendirme açısından yeterli değildir" şeklinde düşünülmektedir (Amy vd., 2008). Yapılan bazı çalışmalarda dişi ratlar ve fareler üzerinde aşırı miktardaki malathion karaciğer tümör oluşumuna neden olurken devam eden dozlarda nadiren oral ve nazal tümörler izlenmiştir (Bonner vd., 2007; Ermiş, 2014).

Yapılan çalışmalarda malathionun arılara ve suda yaşayan canlılara çok zehirli olduğu belirtilmiştir. Bununla beraber kurbağa gibi hem suda hem karada yaşayan canlılara yüksek oranda zehirli iken, kuşlara orta derecede zehirlidir. Yine yapılan bazı çalışmalarda da malathionun birçok yararlı böceğe karşı da zehirli olduğu bildirilmiştir (Bakal, 2010).

1.1.2.1. Malathionun Etki Mekanizması

Organik fosforlu insektisitler toksik etkilerini kolinesteraz inhibitörü olarak gösterirler. Malathion insektisiti malaoksona metabolize olduktan sonra asetilkolinesterazı geri dönüşümsüz olarak inhibe etmektedir. Malathion insektisiti, diğer kimyasal insektisitlerin hepsinde olduğu gibi bir nörotoksikan olup, hedef organizmaların sinir sistemlerine toksik etki göstermektedir. Sinir sistemlerinde spesifik enzimleri inhibe ederek veya sinir uçlarındaki kimyasal nörotransmitterleri etkileyerek nörotoksitesini göstermektedir (Bakal, 2010). Malathion hedef organizmalarda sinirsel impulsların iletiminde rol alan asetilkolini parçalayan asetilkolinesteraz enzimini inhibe ederek, sinir uçlarındaki sinapslarda asetilkolin birikmesine yol açar. Böylece ilaçla temas eden hedef organizmalarda önce uyarılar ortaya çıkar ve sonra bu uyarıları felçler takip eder (Erdağ, 2012).

1.1.3. Paraoksonaz ve Arilesteraz

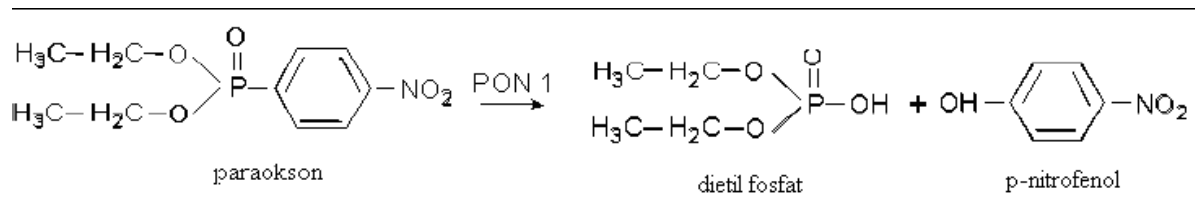
Paraoksonaz, hem arilesteraz (ARE) (E.C. 3.1.1.2) hem de paraoksonaz (PON) (arildialkil fosfataz; organofosfat hidrolaz; paraokson hidrolaz; E.C.3.1.8.1) aktivitesine sahip karaciğerde sentezlenen aynı gen tarafından kodlanan ve aktif merkezleri benzer olan bir ester hidrolazdır. PON'un fizyolojik substrat(lar)'ı henüz tanımlanmamıştır; fakat insektisit ve sinir gazı yapımında yaygın olarak kullanılan organofosfat bileşiklerinin hidrolizini katalizlemekte ve bu nedenle *in vivo* ksenobiyotik metabolizması ve toksikolojik çalışmalar için büyük önem taşımaktadır (Başkol ve Köse, 2004).

Paraoksonaz enzimi ilk olarak 1953 yılında Aldridge tarafından insan kan serumunda bulunmuştur. 1996 yılında, paraoksonaz aktivitesinden sorumlu genin bir multigen ailesinin üyesi olduğu tespit edilmiş ve sırasıyla PON1, PON2 ve PON3 olarak isimlendirilmiştir. PON3 enzimi de PON1'e benzer şekilde büyük çoğunlukta karaciğerden sentezlenmekte ve serumda HDL'ye bağlı olarak bulunmaktadır. PON2 diğer üyelerden farklı olarak plazmada bulunmamaktadır. Ancak beyin, karaciger, böbrek ve testis gibi pek çok dokuda sentezlenmektedir. PON proteinleri memeli türleri arasında geniş bir dağılıma sahiptir. Memelilerde, en azından insanlarda ve farelerde, aynı kromozom üzerinde birbirine komşu üç ayrı PON geni (PON1, 2, 3) bulunmaktadır. PON kolinesterazların güçlü inhibitörü olan paraoksonu hidroliz edebilen, arildialkilfosfataz sınıfı bir ester hidrolaz enzimidir. Enzim aktivitesi kalsiyuma bağımlıdır. PON polimorfizm gösteren bir

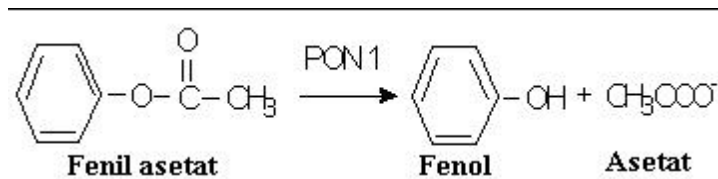
enzim olup; enzim aktivitesi yüksek ve düşük aktiviteli iki allelin genetik kontrolü altındadır. Enzim polimorfizmine ait bu değişkenliğin molekülün 192. pozisyonundaki amino asit farklılığından kaynaklandığı bildirilmiştir. PON'un polimorfik değişim gösterdiği bilinmesine karşın ARE enzimi genetik polimorfik bir değişim göstermemektedir. Yine iki enzimin doğal substratları farklı olmasına karşın PON enzimi ARE'nin doğal substratı olan fenil asetatı hidroliz edebilme yeteneğine sahiptir. Ayrıca PON ve ARE'nin iyi bilinen ortak özellikleri organofosfatları, aril ve alkil halojenürleri hidroliz etme yeteneğidir. PON enzimi LDL'yi oksidasyondan koruyucu özelliği ve hidrojen peroksit de dahil olmak üzere diğer radikalleri nötralize etme kapasitesi nedeniyle antioksidan işlevde de bulunmaktadır. ARE ise, PON'daki değişimlerden etkilenmeyen asıl proteinin göstergesi olarak kabul edilmektedir (Başkol ve Köse, 2004; Türkoğlu vd., 2008).

Organofosfat bileşiklerinden paratanyonun aktif katabolik metaboliti olan paraokson (o,o-dietil-o-p-nitrofenil fosfat), enzime adına verdiği gibi, aktivite tayininde de en çok kullanılan substratlardan birisidir. PON'in hidrolik aktivitesiyle açığa çıkan p-nitrofenol veya fenolün konsantrasyonu üzerinden, PON aktivitesi spektrofotometrik olarak tayin edilebilmektedir. Paraokson (O, O-dietil-O-p-nitrofenil fosfat), paraoksonazın hem aril esteraz aktivitesini hem de paroksonaz aktivitesini ölçmede en sık kullanılan substrattır. Fenil asetat ise sadece arilesteraz aktivitesini ölçmede kullanılan bir substrattır (Şekil 1.2) (Başkol ve Köse, 2004).

A)



B)



Şekil 1.2. Paraoksonazın A) paraoksonu, B) fenil asetatı hidrolizi.

1.1.3.1. PON' un Fonksiyonları

Ksenobiyotik metabolizması üzerine etkisi: Oksidasyon, redüksiyon, hidroliz ve konjugasyon gibi reaksiyonlarla sağlanan ksenobiyotiklerin biyotransformasyonu genellikle böbreklerde ve özellikle de proksimal tübüllerde gerçekleşmektedir (Lock ve Reed, 1998). Glomerüler yumak ve proksimal tübüllerin epitel hücrelerinde lokalize olduğu immunohistokimyasal olarak gösterilen PON'un, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda fonksiyonel olarak rol alabileceği düşünülmektedir (Rodrigo vd., 2001).

Organofosfatlara karşı koruma (Hidrolitik aktivite): Hidroliz yoluyla, organofosfat türevi sinir gazlarının ve insektisitlerin zararsız hale getirilmesi PON1'in en iyi bilinen fonksiyonudur. Paratyon ve klorpiroposokson gibi organofosfat bileşiklerle sarin gibi sinir gazları, PON'un başlıca substratlarını oluşturmaktadır (Başkol ve Köse, 2004). Ancak PON'un bu substratlara karşı afinitesi düşük olduğundan, tarımsal alanda çalışanlarda organofosfat zehirlenmeleri sık görülür. Bununla birlikte, kronik olarak düşük dozda organofosfat türevlerine maruz kalanlarda, PON'un daha etkili olduğu belirtilmektedir (Lock ve Reed, 1998). Organofosfatlar, PON'un yanı sıra, sinapslarda ve nöromusküler kavşaklarda bulunan psödokolinesteraz ve asetilkolinesteraz gibi B-esterazların da substratlarıdır. Bu enzimler organofosfatlar tarafından geri dönüşümsüz olarak inhibe edildiklerinden dolayı PON dolaşımdaki organofosfatları hidroliz etmek suretiyle, sinir sistemini koruyan bir ajan olarak da görev yapmaktadır (Durrington vd., 2001).

Bakteriyal endotoksinlerden kaynaklanan toksisiteye karşı koruma: Son yıllarda, HDL kompleksinin, gram negatif enfeksiyonlar sırasında gelişen endotoksemiye karşı savunmada rol aldığı; bakteriyel lipoprotein polisakkarid ile makrofaj spesifik protein CD14 arasındaki etkileşimin, henüz bilinmeyen bir mekanizmayla HDL tarafından önlendiği ifade edilmektedir. PON1'in yine sitokin salınımının önlenmesinde rol oynayabileceği düşünülmektedir (La Du vd., 1999).

LDL ve HDL oksidasyonunun önlenmesi: Oksidatif stres altında lipid peroksidasyonu sadece LDL'de değil; HDL'deki lipidlerde de meydana gelmektedir.

PON'un hem LDL'yi, hem de HDL'yi oksidasyondan koruduğu bildirilmiştir. PON'un HDL vasıtasıyla antioksidan etkiye katkıda bulunduğu ve HDL'nin inhibitör etkisinde, metal iyon selasyonu ve/veya peroksidaz benzeri aktivite ile ilişkili olabileceği ileri sürölmektedir. HDL-PON, fosfolipidleri hidroliz edebilme yeteneğine sahiptir. HDL'nin LDL oksidasyonu üzerine koruyucu etkisinin öncelikle PON'dan kaynaklandığı düşünölmektedir. PON'un, Cu^{+2} 'nin indüklediği lipoprotein oksidasyonunu *in vitro* olarak inhibe ettiği, PON inhibitörlerinin serbest radikal oluşumunu ve Cu^{+2} 'nin indüklediği HDL oksidasyonunu artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca, PON'in makrofajlardan kolesterol çıkısını artırdığı da bildirilmiştir (Başkol ve Köse, 2004).



2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Çalışma Alanı

Araştırma, Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde bulunan balık havuzlarında ve Balık Hastalıkları laboratuvarında yürütüldü. Araştırmada 30x100x40 cm boyutlarındaki 12 akvaryum kullanıldı (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Çalışmada kullanılan balık ve akvaryumlar

2.1.2. Balık

Çalışmada kullanılan ve ortalama ağırlığı yaklaşık 100 g olan pullu sazan (*C. carpio* Linnaeus, 1758) örnekleri DSİ IX. Bölge Müdürlüğü Keban Su Ürünleri Şube Müdürlüğü'nden temin edildi.

2.1.3. Malathion

Araştırmada kullanılan malathion (190 g/L malathion, S-1,2 bis (ethoxycarbonyl) ethyl-O,O dimethyl phosphorodithioate) ticari bir firma (Safa Tarım, Konya, Türkiye). aracılığıyla temin edildi.

2.1.4. Araştırmada Kullanılan Araç-Gereçler ve Kimyasal Maddeler

Araştırmada kullanılan kimyasal maddeler Tablo 2.1'de, kullanılan araç ve gereçler ise Tablo 2.2'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Araştırmada kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal Madde	Katalog Numarası
Potasyum klorür	Merck 4936
Perklorik asit	Fluka 34288
Sodyum klorür	Sigma – Aldrich 13423
Hidroklorik asit	Sigma – Aldrich H1758
Sodyum hidroksit	Sigma S-0899
Paraoksonon (Dietil p-Nitrofenil Fosfat)	Sigma D9286
Fenil asetat	ABCR AB 134000
Kalsiyum klorür	Sigma – Aldrich 12022
Trizma (Tris)	Merck 1.08387.0500

Tablo 2.2. Araştırmada kullanılan araç ve gereçler

Kullanılan araç ve gereçler	
Balon joje (5, 10, 25, 50 ml)	Isolab
Beher (25, 50, 100 ml)	Isolab
Erlen (25, 50, 100, 250 ml)	Isolab
Cam tüp (16x100 mm)	Isolab
Muayene Eldiveni	Nimo
Mavi ve sarı pipet ucu	BRAND
Mikro pipet (10-100, 100-1000 �l)	BRAND
Spektrofotometre küveti (kuartz)	Q-104
Hassas terazi (0,01 g hassasiyetli)	
Hassas terazi (0,001 g hassasiyetli)	Shimadzu- UW 620 H
Homojenizatör	WiseStir HS-30E
Bidistile su cihazı	NÜVE NS 108
Manyetik karıştırıcı	Colara Magnetomix
Soğutmalı santrifüj	NÜVE NF 800 R
-20�C soğutucu	Uğur Derin Dondurucu
Spektrofotometre	Aquamete Spectronic Unicam
Su banyosu	Nüve ST 402
Vorteks	Velp Scientifica 10.0176

2.2. Metot

2.2.1. Deneysel Plan

Araştırmada kullanılan balıklar sıcaklığı 23 °C' ye ayarlanmış 12 farklı akvaryuma her birinde 15 balık olacak şekilde stoklandı. Deneysel çalışmaya başlamadan önce balıklar hazırlanmış olan bu akvaryumlara 15 gün süreyle adapte edildi. Adaptasyon ve denem süresince balıklara ticari bir firmadan temin edilen alabalık yemi verildi.

Adaptasyon süresi sonunda aşağıdaki gibi bir kontrol üç deney grubu olmak üzere toplam dört grup oluşturuldu.

K: Kontrol grubu;

D1: 1 mg/L konsantrasyonunda (LC₅₀ değerinin (2,10 mg/L mg/L) yaklaşık 1/2'si) malathion uygulanan grup;

D2: 0,5 mg/L konsantrasyonunda (LC₅₀ değerinin (2.10 mg/L mg/L) yaklaşık 1/4'ü) malathion uygulanan grup;

D3: 0,25 mg/L konsantrasyonunda (LC₅₀ değerinin (2.10 mg/L mg/L) yaklaşık 1/8'i) malathion uygulanan grup.

Malathionun subletal konsantrasyonları Kaur and Dhawan (1993)'a göre seçildi. Nominal konsantrasyonu sağlamak için test konsantrasyonları haftada 3 kez yenilendi. Çalışma üç tekrarlı yürütüldü. Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanan bu araştırmada her bir tekrar için 60 adet olmak üzere toplamda 180 balık kullanıldı. Deneme 21 gün sürdü.

Araştırma süresince düzenli olarak, 0,1 hassasiyetli termometre ile suyun sıcaklığı, 0,03 hassasiyetli pH metre ile pH'sı ve 0,01 hassasiyetli oksijenmetre ile çözünmüş oksijen miktarı ölçüldü. Bu amaç için dijital bir oksijenmetre ve termometre'den yararlanıldı.

2.2.2. Örneklerin Alınması ve İşlenmesi

Çalışmanın 7., 14. ve 21. günlerinde her gruptan beş balık alınıp benzokain (25 mg/L) ile anestezi edildi. Anesteziden sonra balıklar pedünkül bölgesinden ensize edilerek kavdal venadan kan örnekleri cam tüplere alındı. Bunu takiben usulüne uygun bir şekilde (Arda ve diğ., 2005) otopsi yapılan balıkların karaciğeri çıkarıldı. Cam tüplere alınan kan örneklerinin 3500 rpm' de 10 dakika santrifüjünden sonra serumları ayrıldı. Serum ve karaciğer örnekleri analiz edilene kadar -20 °C' de muhafaza edildi.

2.2.3. Karaciğer Örneklerinden Homojenatların Hazırlanması

Alınan karaciğer örneklerinden homojenatların hazırlanması için örnekler 0,5 gram tartıldı. İki süzgeç kağıdı arasında suyu alındıktan sonra % 1.15'lik KCl içinde 1:10 oranında sulandırılarak homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar 50 ml'lik propilen tüplerde soğutmalı santrifüjde 3200 rpm'de +4 °C' de 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatantlar alındı (Yonar, 2008).

2.2.4. PON ve ARE Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi

Paraoksonaz enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak serum ve karaciğer örneklerinde tayin edildi. Aktivite ölçümü için sırasıyla, 850 µl Tris-HCl tamponu (100 mM, pH:8) + 100 µl substrat çözeltisi (2 mM paraokson + 2 mM koenzim CaCl_2) + 100 µl enzim çözeltisi karıştırılıp 412 nm ve 37 °C'de 1 dakikada absorbansta meydana gelen değişme okundu. Böylelikle paraoksanın p-nitrofenole enzimatik dönüşüm hızı tespit edildi. Arilesteraz enzim aktiviteside aynı prensiple ölçüldü fakat substrat olarak fenilasetat kullanıldı (Dubravka vd., 2001). Enzim aktivitelerinin hesaplanması için hazırlanılan standart grafikten yararlanıldı.

2.2.5. İstatistiksel Analizler

Denemede elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri SPSS 12.0 istatistik programı kullanılarak gerçekleştirildi. Kontrol ve deneme grubu balıklarının PON ve ARE enzim aktivitelerinde meydana gelen değişimler tek yönlü varyans analizi (ONEWAY – ANOVA) ile test edildi (Sümbüloğlu, 1998; Kocaçalışkan ve Bingöl, 2008; Kalaycı, 2010). Grafiklerin çiziminde ise EXCEL programından yararlanıldı.

3. BULGULAR

Çalışmaya başlamadan önce 2 hafta süreyle gözlem altında tutulan pullu sazanlarda herhangi bir ölüm gözlenmedi. Yem alımlarında herhangi bir problem yaşanmadı. Deneme süresince kontrol ve deneme grubu balıklarında ölüm görülmedi. Balıklarda klinik olarak herhangi bir olumsuzluk gözlemlenmezken, kan alındıktan sonra otopsisı yapılan balıklarda klinik herhangi bir bulguya rastlanmamıştır.

Çalışma sırasında su sıcaklığı 23 ± 1 °C, pH 7,1 ile 7,3 ve oksijen düzeyi ise 8,07 ile 8,43 mg/L arasında ölçüldü. Araştırma boyunca sıcaklık, oksijen düzeyi ve pH'da önemli değişiklikler görülmedi.

3.1. PON Enzim Aktivitesindeki Değişimler

Kontrol grubu balıklarıyla farklı konsantrasyonlarda malathion uygulanan balıklardan alınan serum ve karaciğer örneklerinde yapılan testler sonucunda PON enzim aktivitesinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarının serumunda çalışma boyunca PON enzim aktivitesinin $75,73 \pm 3,99$ ile $76,64 \pm 5,54$ arasında değiştiği belirlendi. Malathionun 1 mg/L konsantrasyonunda verildiği balıklarda serum PON enzim aktivitesi 7. günde $54,91 \pm 8,24$ iken araştırmanın 21. gününde $68,63 \pm 7,62$ düzeyine çıktı. 0,5 mg/L konsantrasyonunda malathion uygulanan balıkların serumunda bu aktivite 7. günde $53,74 \pm 5,18$, 21. günde ise $71,57 \pm 9,02$ olarak belirlendi. Malathionun 0,25 mg/L konsantrasyonunda uygulandığı balıkların serumunda ise bu değer 7. günde $65,28 \pm 7,58$ olarak bulunurken, 21. günde $75,39 \pm 8,07$ olarak tespit edildi (Tablo 3.1, Şekil 3.1).

Uygulamanın 7. gününde serum PON aktivitesi kontrol grubuna göre D1, D2 ve D3 deneme gruplarında sırasıyla % 27,49, % 29,03 ve % 13,79 düzeyinde azaldı. Bu azalmalar istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0,05$, Tablo 3.1). Denemenin 14. gününde kontrol grubuna göre D1 ve D2 deneme gruplarında serum PON aktivitesi sırasıyla % 10,15 ve % 10,45, 21. günde ise % 10,27 ve % 6,43 düzeyinde azaldı ($p < 0,05$, Tablo 3.1). D3 grubunda 14. ve 21. günde kontrol grubuna göre serum PON aktivitesinde herhangi bir fark bulunmadı ($p > 0,05$, Tablo 3.1).

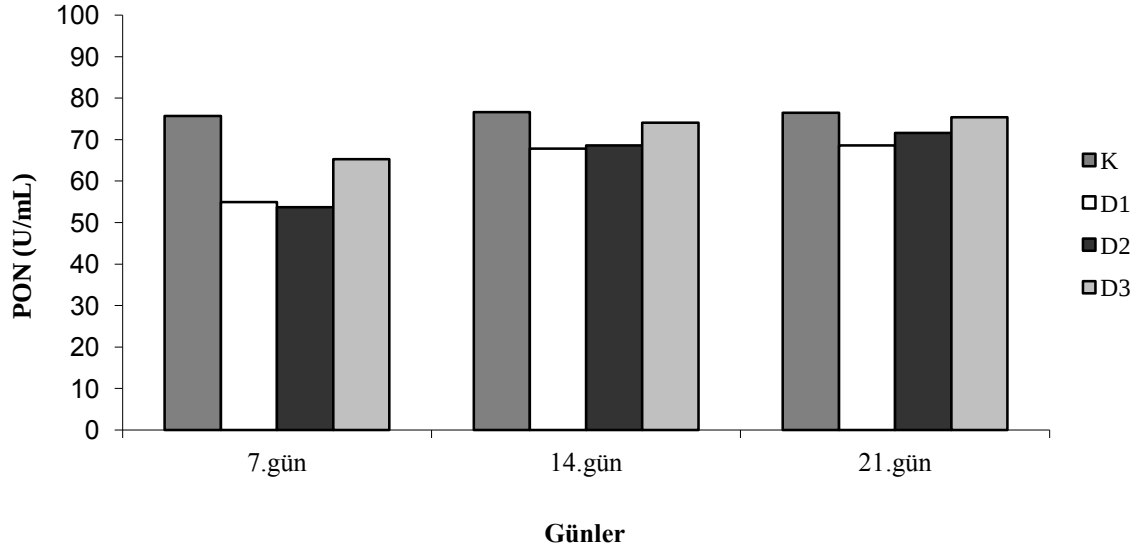
Tablo 3.1. Kontrol ve deneme grubu balıklarının serum PON enzim aktivitesindeki zamana bağlı değişimler (U/mL, Ortalama $\pm$ standart hata)

Doku	Günler	Deneme Grupları			
		K	D1	D2	D3
Serum	7. gün	75,73 $\pm$ 3,99 ^{A; a}	54,91 $\pm$ 8,24 ^{C; b}	53,74 $\pm$ 5,18 ^{C; b}	65,28 $\pm$ 7,58 ^{B; b}
	14. gün	76,64 $\pm$ 5,54 ^{A; a}	67,86 $\pm$ 7,33 ^{B; a}	68,63 $\pm$ 6,60 ^{B; a}	74,05 $\pm$ 5,80 ^{A; a}
	21. gün	76,49 $\pm$ 7,86 ^{A; a}	68,63 $\pm$ 7,62 ^{B; a}	71,57 $\pm$ 9,02 ^{B; a}	75,39 $\pm$ 8,07 ^{A; a}

K: Kontrol grubu; D1: 1 mg/L konsantrasyonunda malathion uygulanan grup; D2: 0,5 mg/L konsantrasyonunda malathion uygulanan grup; D3: 0,25 mg/L konsantrasyonunda malathion uygulanan grup.

^{a,b,c,d} Aynı sütunda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).

^{A,B,C,D} Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).



Şekil 3.1. Kontrol ve deneme grubu balıklarının serum PON enzim aktivitesindeki zamana bağlı değişimler

Kontrol grubu balıklarının çalışma boyunca karaciğerinde PON enzim aktivitesinin 73,86 $\pm$ 5,40 ile 74,15 $\pm$ 5,69 arasında değiştiği belirlendi (Tablo 3.2, Şekil 3.2). Malathionun 1 mg/L konsantrasyonunda verildiği balıkların karaciğer dokusunda PON enzim aktivitesi 7. günde 57,37 $\pm$ 5,23 iken araştırmanın 21. gününde 69,35 $\pm$ 4,35

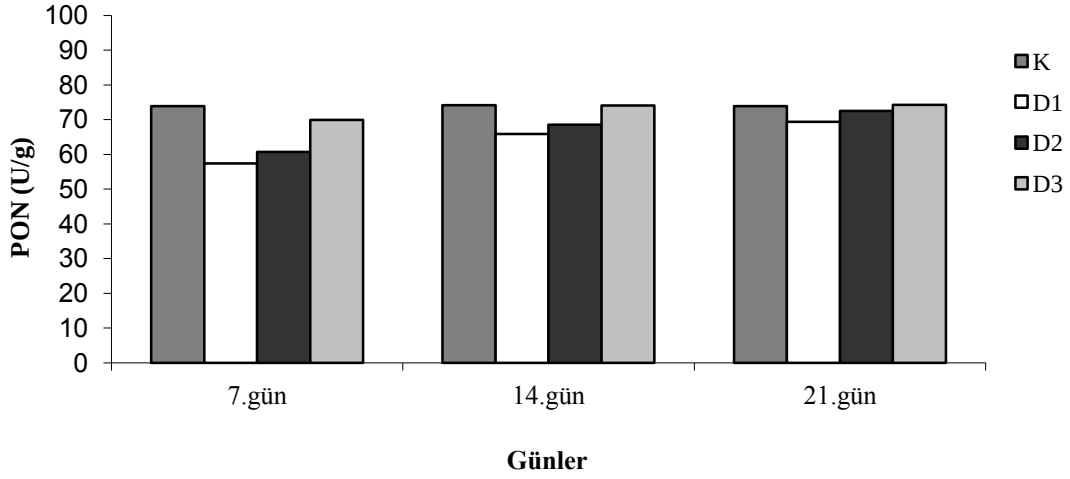
düzeyine ulaştı. 0,5 mg/L konsantrasyonunda malathion uygulanan balıkların karaciğer dokusunda bu aktivite 7. günde $60,69 \pm 5,02$, 21. günde ise $72,48 \pm 5,18$ olarak bulundu. Malathionun 0,25 mg/L konsantrasyonunda uygulandığı balıkların karaciğer dokusunda ise bu değer 7. günde $69,94 \pm 3,78$ olarak bulunurken, 21. günde $74,29 \pm 4,95$ olarak belirlendi (Tablo 3.2, Şekil 3.2).

Uygulamanın 7. gününde karaciğer PON aktivitesi kontrol grubuna göre D1, D2 ve D3 deneme gruplarında sırasıyla % 22,32, % 17,83 ve % 5,30 düzeyinde azaldı. Bu azalmalar istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0,05$, Tablo 3.2). Denemenin 14. gününde kontrol grubuna göre D1 ve D2 deneme gruplarında karaciğer PON aktivitesi sırasıyla % 11,22 ve % 7,56, 21. günde ise yalnızca D1 grubunda % 6,15 düzeyinde azaldı ($p < 0,05$, Tablo 3.2). D2 grubunda 14. günde, D3 grubunda ise 14. ve 21. günde kontrol grubuna göre karaciğer PON aktivitesinde herhangi bir fark bulunmadı ($p > 0,05$, Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Kontrol ve deneme grubu balıklarının karaciğer PON enzim aktivitesindeki zamana bağlı değişimler (U/g, Ortalama $\pm$ standart hata)

Doku	Günler	Deneme Grupları			
		K	D1	D2	D3
Karaciğer	7. gün	$73,86 \pm 5,40^{A; a}$	$57,37 \pm 5,23^{D; a}$	$60,69 \pm 5,02^{C; a}$	$69,94 \pm 3,78^{B; a}$
	14. gün	$74,15 \pm 5,69^{A; a}$	$65,83 \pm 4,58^{B; b}$	$68,54 \pm 6,11^{B; b}$	$74,05 \pm 5,41^{A; b}$
	21. gün	$73,90 \pm 6,77^{A; a}$	$69,35 \pm 4,35^{B; c}$	$72,48 \pm 5,18^{A; B; c}$	$74,29 \pm 4,95^{A; b}$

K: Kontrol grubu; D1: 1 mg/L konsantrasyonunda malathion uygulanan grup; D2: 0,5 mg/L konsantrasyonunda malathion uygulanan grup; D3: 0,25 mg/L konsantrasyonunda malathion uygulanan grup.
^{a,b,c,d} Aynı sütunda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).
^{A,B,C,D} Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).



Şekil 3.2. Kontrol ve deneme grubu balıklarının karaciğer dokusunda PON enzim aktivitesindeki zamana bağlı değişimler

3.2. ARE Enzim Aktivitesindeki Değişimler

Kontrol grubu balıklarıyla farklı konsantrasyonlarda malathion uygulanan balıklardan alınan serum ve karaciğer örneklerinde yapılan testler sonucunda ARE enzim aktivitesinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu balıklarının çalışma boyunca serumunda ARE enzim aktivitesinin $345,86 \pm 22,97$ ile $347,42 \pm 20,26$ arasında değiştiği belirlendi (Tablo 3.3, Şekil 3.3). Malathionun 1 mg/L konsantrasyonunda verildiği balıklarda serum ARE enzim aktivitesi 7. günde $249,95 \pm 25,32$ iken araştırmanın 21. gününde $310,16 \pm 24,65$ düzeyine çıktı. 0,5 mg/L konsantrasyonunda malathion uygulanan balıkların serumunda bu aktivite 7. günde $257,21 \pm 24,88$, 21. günde ise $325,95 \pm 21,39$ olarak belirlendi. Malathionun 0,25 mg/L konsantrasyonunda uygulandığı balıkların serumunda ise bu değer 7. günde $277,42 \pm 25,24$ olarak bulunurken, 21. günde $334,38 \pm 22,78$ olarak tespit edildi (Tablo 3.3, Şekil 3.3).

Tablo 3.3. Kontrol ve deneme grubu balıklarının serum ARE enzim aktivitesindeki zamana bağlı değişimler (U/mL, Ortalama $\pm$ standart hata)

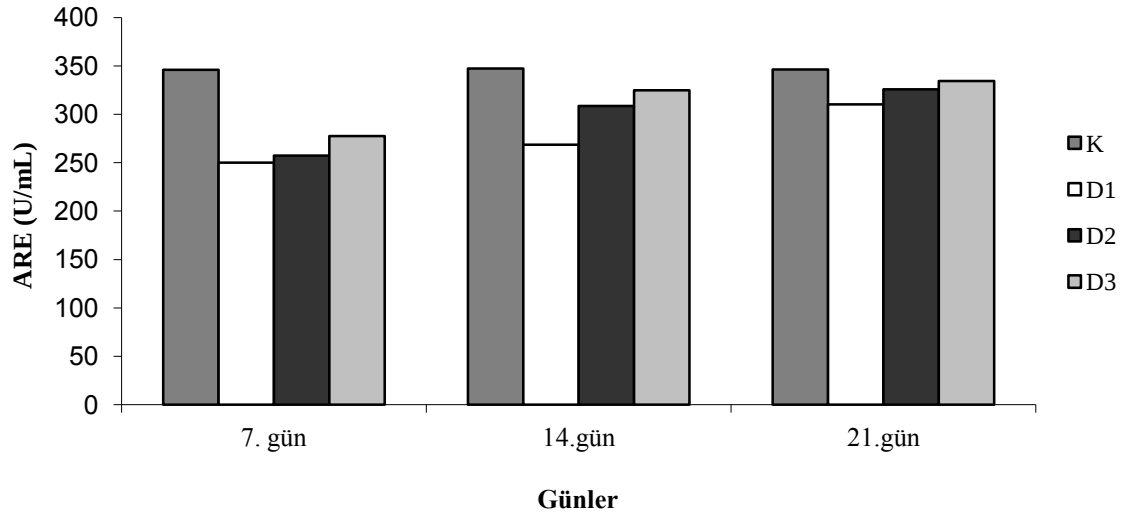
Doku	Günler	Deneme Grupları			
		K	D1	D2	D3
Serum	7. gün	345,86 $\pm$ 22,97 ^{A; a}	249,95 $\pm$ 25,32 ^{C; a}	257,21 $\pm$ 24,88 ^{C; a}	277,42 $\pm$ 25,24 ^{B; a}
	14. gün	347,42 $\pm$ 20,26 ^{A; a}	268,51 $\pm$ 23,13 ^{D; b}	308,52 $\pm$ 20,82 ^{C; b}	324,91 $\pm$ 23,06 ^{B; b}
	21. gün	346,17 $\pm$ 24,39 ^{A; a}	310,16 $\pm$ 24,65 ^{C; c}	325,95 $\pm$ 21,39 ^{B; c}	334,38 $\pm$ 22,78 ^{A,B; b}

K: Kontrol grubu; D1: 1 mg/L konsantrasyonunda malathion uygulanan grup; D2: 0,5 mg/L konsantrasyonunda malathion uygulanan grup; D3: 0,25 mg/L konsantrasyonunda malathion uygulanan grup.

^{a,b,c,d} Aynı sütunda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).

^{A,B,C,D} Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).

Uygulamanın 7. gününde serum ARE aktivitesi kontrol grubuna göre D1, D2 ve D3 deneme gruplarında sırasıyla % 27,61, % 25,50 ve % 19,65 düzeyinde azaldı. Bu azalmalar istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0,05$, Tablo 3.3.). Denemenin 14. gününde kontrol grubuna göre D1, D2 ve D3 deneme gruplarında serum ARE aktivitesi sırasıyla % 22,71, % 11,19 ve % 6,4, 21. günde ise D1 ve D2 gruplarında sırasıyla % 10,40 ve % 5,84 düzeyinde azaldı ($p < 0,05$, Tablo 3.3). D3 grubunda 21. günde kontrol grubuna göre serum ARE aktivitesinde herhangi bir fark bulunmadı ($p > 0,05$, Tablo 3.3.).



Şekil 3.3. Kontrol ve deneme grubu balıklarının serum ARE enzim aktivitesindeki zamana bağlı değişimler

Kontrol grubu balıklarının karaciğerinde çalışma boyunca ARE enzim aktivitesinin $153,32 \pm 14,12$ ile $153,70 \pm 13,55$ arasında değiştiği belirlendi (Tablo 3.4, Şekil 3.4). Malathionun 1 mg/L konsantrasyonunda verildiği balıkların karaciğer dokusunda ARE enzim aktivitesi 7. günde $81,77 \pm 15,45$ iken araştırmanın 21. gününde $101,66 \pm 16,38$ düzeyine ulaştı. 0,5 mg/L konsantrasyonunda malathion uygulanan balıkların karaciğer dokusunda bu aktivite 7. günde $110,52 \pm 13,47$, 21. günde ise $140,11 \pm 15,61$ olarak bulundu. Malathionun 0,25 mg/L konsantrasyonunda uygulandığı balıkların karaciğer dokusunda ise bu değer 7. günde $120,76 \pm 14,78$ olarak bulunurken, 21. günde $143,65 \pm 12,24$ olarak belirlendi (Tablo 3.4, Şekil 3.4).

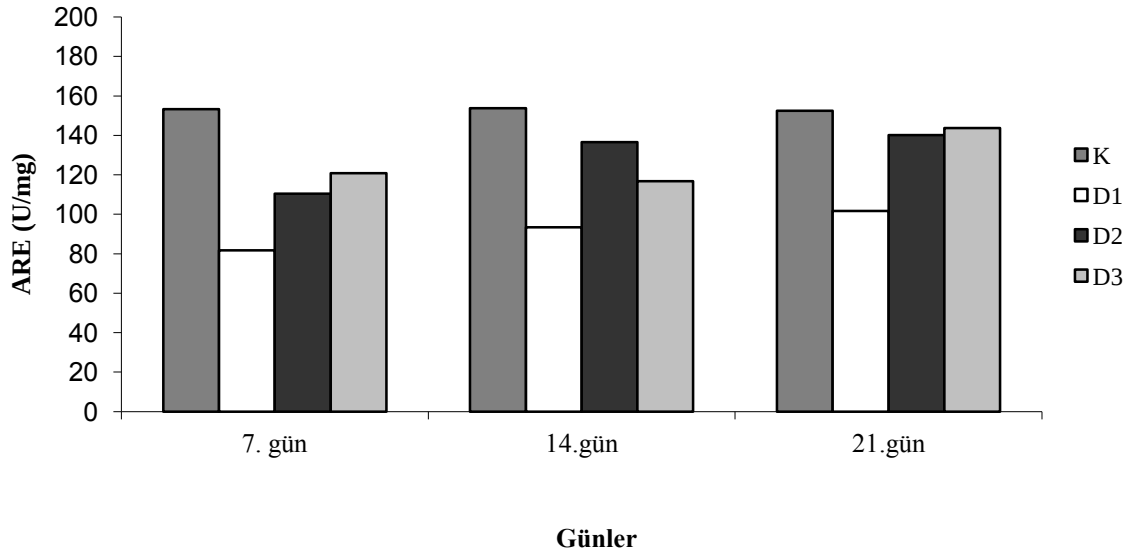
Uygulamanın 7. gününde karaciğer ARE aktivitesi kontrol grubuna göre D1, D2 ve D3 deneme gruplarında sırasıyla % 46,51, % 27,82 ve % 21,23 düzeyinde azaldı. Bu azalmalar istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0,05$, Tablo 3.4.). Denemenin 14. gününde kontrol grubuna göre D1, D2 ve D3 deneme gruplarında karaciğer ARE aktivitesi sırasıyla % 39,21, % 11,18 ve % 23,99, 21. günde ise yine bu gruplarda sırasıyla % 33,33 % 8,11 ve % 5,79 düzeyinde azaldı ($p < 0,05$, Tablo 3.4.). Uygulamanın tüm günlerinde karaciğer ARE aktivitesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulundu ($p < 0,05$, Tablo 3.4.).

Tablo 3.4. Kontrol ve deneme grubu balıklarının karaciğer ARE enzim aktivitesindeki zamana bağlı değişimler (U/g, Ortalama ± standart hata)

Doku	Günler	Deneme Grupları			
		K	D1	D2	D3
Karaciğer	7. gün	153,32 ± 14,12 ^{A; a}	81,77 ± 15,45 ^{D; a}	110,52 ± 13,47 ^{C; a}	120,76 ± 14,78 ^{B; a}
	14. gün	153,70 ± 13,55 ^{A; a}	93,43 ± 14,06 ^{D; b}	136,51 ± 12,85 ^{B; b}	116,82 ± 13,01 ^{C; a}
	21. gün	152,49 ± 12,10 ^{A; a}	101,66 ± 16,38 ^{C; c}	140,11 ± 15,61 ^{B; b}	143,65 ± 12,24 ^{B; b}

K: Kontrol grubu; D1: 1 mg/L konsantrasyonunda malathion uygulanan grup; D2: 0,5 mg/L konsantrasyonunda malathion uygulanan grup; D3: 0,25 mg/L konsantrasyonunda malathion uygulanan grup.

^{a,b,c,d} Aynı sütunda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p < 0,05).
^{A,B,C,D} Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p < 0,05).



Şekil 3.4. Kontrol ve deneme grubu balıklarının karaciğer dokusunda ARE enzim aktivitesindeki zamana bağlı değişimler

4. TARTIŞMA

Zirai mücadelede yaygın kullanılan pestisitler tarım alanlarında ya da tarım ürünlerinde istenmeyen canlıları öldürerek ürün verimliliğini arttıran kimyasallardır. Diğer pestisitlere kıyasla daha az toksik etkili olarak değerlendirilen organofosfatlar halen etkin bir vektörel mücadele aracıdır. Organik fosforlu insektisitlerin tarım alanında pestlere karşı etkili olduklarının keşfinden sonra çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar genellikle toksisite üzerinedir. Organik fosforlu insektisitler arasında bulunan malathion insektisit amaçla oldukça yaygın kullanılmaktadır. Bu bileşiklerin yaygın olarak kullanılması sonrası bazı böcek türlerinde direnç gelişebilmektedir. Bu bileşikler direnç oluşturma yanında gıdalar, toprak, su ve havada da birikebilmektedirler. Hem direnç gelişimi hem de canlı ve cansız çevrede birikmeleri pestisitlerin en önemli istenmeyen etkilerindendir. Bu durum her pestisit için geçerli değildir. Daha doğrusu her pestisit kendine özgü bir süre çevrede dayanıklılığı söz konusudur. Yaygın kullanıldıklarında uyguladıkları bölgeler başta olmak üzere hava, su ve toprakta birikmeye başlar. Sonra bu doğal çevreden bitki ve hayvanlara ve buradan da insanlara yansır. Bu anlamda çevredeki kalıntıları ve parçalanma yarı ömürlerinin bilinmesi önem arz etmektedir. Malathionun çevrede kalıcılığı diğer organik fosforlu insektisitlere göre daha azdır. Bu durum malathionun kimyasal yapısı ve diğer özellikleri ile ilişkilendirilebilir. Malathionun çevrede kalış süresi yaklaşık 1-25 gün arasındadır. Bu kadar farklılık görülmesinin nedeni bulunduğu ortam, çevre ve iklim şartlarının değişkenliği olabilir (Ermiş, 2014).

Bu çalışma süresince balıklarda ölüm gözlenmemiştir. Yem alımlarında herhangi bir olumsuzluk yaşanmamıştır. Yine balıklarda pestisit zehirlenmelerinde görülen deride özellikle baş bölgesinde, yüzgeçlerde, yutakta ve vücutta kanamalar, fazla mukus salgısı, solungaçlarda hiperemi, hemoraji ve yangı, zayıflama, durgunluk, iştahsızlık, yüzmede bozukluk, bağırsaklarda hemoraji ve hiperemi (Arda vd, 2005) gibi klinik bulgulara rastlanmamış, balıkların rutin davranışlarını sergilediği gözlemlenmiştir. Bu bulgular verilen dozların balıklarda herhangi bir zehirlenmeye neden olmadan kronik olarak toksik etkiler doğurabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmada, farklı koşullara kolay uyum göstermeleri, yetiştirme ve beslenme kolaylıkları, doğal sularda bol miktarda bulunmaları, ekonomik değerlerinin yüksek oluşu ve tabandan beslenmeleri nedeni ile pullu sazan (*C. carpio*) tercih edilmiştir.

Ritola vd. (2000), ozona maruz bırakarak oksitadif stres oluşturdıkları *Salvelinus alpinus*'da kan ve karaciğerindeki glutatyon düzeyini araştırmış ve bu organların önemli

antioksidan aktiviteye sahip olmaları nedeniyle seçildiklerini ifade etmişlerdir. Yine balıklarda karaciğer, solungaç, sindirim kanalı, deri, kalp, kas ve kanda yüksek antioksidan aktivite belirlenmiştir (Trenzado vd., 2006). Bu çalışmada da karaciğer, böbrek, dalak, solungaç, plazma ve kanın seçilmesinin nedeni bu organların balıklarda güçlü antioksidan aktivite göstermeleri ve toksik maddelerden en fazla bu organların etkilenmesidir.

Malathionun balıklarda PON ve ARE enzim aktivitesine etkisini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bunun yanı sıra malathion kullanılarak yapılan çalışmaların çoğu letal konsantrasyonun belirlenmesi, oksidatif stres, antioksidan durum, hematolojik ve immunolojik değişimler konusunda olmuştur. Örneğin Mishra ve Srivastava (1983) *Heteropneustes fossilis*'te malathionun 24, 48, 72 ve 96 saat için LC50 değerlerini sırasıyla ile 9.50, 9.25, 8.62 ve 8.50 olarak bulmuştur. Aynı çalışmada 2, 6, 12, 48 ve 96 saat süre ile 7.60 ppm malathion uygulanan balıklarda kas ve karaciğer dokusunda glikojen miktarının, hematokrit değer ve hemoglobin miktarının önemli düzeyde azaldığı bulunmuştur. Başka bir çalışmada malathion uygulanan *C. carpio*' da kan parametrelerinin olumsuz yönde etkilendiği bildirilmiştir (Kaur ve Dhawan, 1993). Yine aynı balık türünde malathion uygulamasıyla bazı hematolojik (eritrosit sayısı, hemoglobin konsantrasyonu, hematokrit seviyesi, eritrosit indeksleri: MCV, MCH, MCHC) ve immunolojik parametreler (lökosit sayısı, oksidatif radikal üretimi (nitroblue tetrazolium (NBT) aktivitesi), total plazma protein and total immunoglobulin düzeyleri ve fagositik aktivite)' in negatif etkilendiği, oksidan/antioksidan dengenin bozulduğu ve oksidatif stresin indüklendiği ifade edilmiştir (Mişe Yonar, 2013; Mişe Yonar vd., 2014).

Balıklarda PON ve ARE enzim aktivitesi ile ilgili farklı teoriler vardır. Bazı araştırmacılar balıklarda bu enzim aktivitelerinin olmadığını iddia ederken (Mackness vd., 1996; Durrington vd., 2001; Başkol ve Köse, 2004) bazı araştırmacılar ise bu enzim aktivitelerinin balıklarda görüldüğünü ifade etmişlerdir. Balıklardaki çalışmalar ise bu enzimlerin yalnızca saflaştırması ve düzeyinin belirlenmesi yönünde olmuştur (Bastos vd., 1998a, b; Beyaztaş vd., 2007). Örneğin; Folly vd. (2001) *Piaractus mesopotamicus* türü balıklarda PON aktivitesinin varlığını göstermiş ve bu enzimin balıklarda high density lipoprotein (HDL) ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Diğer taraftan aynı koşullarda yetiştirilen normal ve albino gökkuşağı alabalıklarının PON aktivitesi araştırılmış ve sonuçta kültür gökkuşağı alabalığında serum PON aktivitesi daha yüksek bulunmuştur. Bu farklılığın nedeni tür, büyüklük ve baskınlık durumuna bağlanmıştır (Karataş ve Kocaman, 2012). Aynı araştırmacılar tarafından yapılan başka bir çalışmada ise doğadan yakalanan

ve kültür altındaki kaynak alabalığı (*Salvelinus fontinalis*)' nda PON enzim aktivitesi ile PON/HDL oranı araştırılmıştır. Sonuç olarak PON aktivitesi ve PON/HDL oranı kültür altındaki kaynak alabalığında doğadan yakalananlara göre daha yüksek bulunmuştur (Karataş ve Kocaman, 2014). Bastos vd. (2004) neotropikal dört balık türü *Piaractus mesopotamicus*, *Brycon cephalus*, *Hypostomus punctatus*, *Salminus brasiliensis*' in serumunda PON enzim aktivitelerini sırasıyla 6,1, 6,6, 1,5 ve 35,2 nmol x min⁻¹ x ml⁻¹ olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada da PON ve ARE enzim aktiviteleri hem serum hem de karaciğerde tespit edilmiş dolayısıyla bu enzimlerin varlığı sazanlarda gösterilmiştir.

Farklı metallerin balıklardaki paraoksonaz enzim düzeyine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada kadmiyum, bakır, civa ve kobalt ağır metallerinin sazanlarda paraoksonaz enzimini farklı şekilde inhibe ettiği bulunmuştur (Beyaztaş vd., 2007). Sayın vd. (2012) tarafından *Scyliorhinus canicula* türü balıklarda yapılan çalışmada PON enzim aktivitesi saflaştırılmış ve (Ni²⁺), (Cd²⁺), (Hg²⁺) ve (Cu²⁺) metallerinin PON enzim aktivitesine inhibitör etkisi *in vitro* olarak araştırılmıştır. Serum PON total aktivitesi 11788,8 U/ml olarak, spesifik aktivite ise 344,701 olarak bulunmuştur. Ayrıca Ni²⁺, Cd²⁺, Hg²⁺ ve Cu²⁺ metallerinin hepsinin inhibitör etki gösterdiğini, bunun yanında en güçlü inhibitör etkinin Cu²⁺ tarafından oluşturulduğu belirlenmiştir. Çinko sülfat (ZnSO₄) formunda çinko metali kullanılarak yapılan başka bir çalışmada da 10 gün boyunca 5 ve 10 mg/L konsantrasyonlarında çinko uygulanan *Capoeta capoeta* balıklarında plazma PON1 aktivitesinin kontrol grubuna göre azaldığı ve PON1 aktivitesinin metallere çok duyarlı olduğu ifade edilmiştir (Deveci vd., 2015). Yonar vd. (2012), krom oksit (CrO₃) formunda krom kullanarak yaptıkları çalışmalarında 15, 30 ve 60 ppb konsantrasyonlarında 28 gün uygulanan kromun sazanlarda (*C. carpio*) serum PON ve ARE aktivitesini düşürdüğünü göstermişlerdir. Bu düşüşün artan konsantrasyonla arttığını ifade etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada da PON enzim aktivitesinin balıklar için ağır metaller gibi toksik olduğu bilinen malathion uygulamasıyla azaldığı görülmüştür.

Pestisitlerin balıklarda PON veya ARE enzim aktivitesine etkisini araştıran yalnızca bir araştırmaya rastlanılmıştır. Bu araştırmada karbamatlı bir pestisit olan karbosulfanın gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'ndaki mutajenik, genotoksik ve enzim inhibitör etkisi araştırılmıştır (Altınok vd., 2012). Karbosulfanın 25 µg/L' lik konsantrasyonu (LC₅₀ değerinin % 5' i) balıklara verilerek kronik toksisitesi 60 gün için araştırılmıştır. İlk ay için her hafta, ikinci ay için ise 15 günde bir alınan plazma örneklerinde PON aktivitesi 12,01 ± 1,65 U/L ve 9,05 ± 0,89 U/L arasında bulunmuştur. PON aktivitesinin karbosulfan

uygulamasıyla istatistiksel olarak önemli bir inhibisyona uğramadığı, PON aktivitesinin inhibisyon oranının birinci haftada % 7,36 iken bu oranın sekizinci hafta % 16,67 şeklinde gerçekleştiği belirlenmiştir. Bu araştırmada ise deneme başlangıcında PON aktivitesi malathionun her üç konsantrasyonun uygulandığı sazanlarda kontrol grubuna göre önemli oranda azalmış, deneme sonunda ise kontrol grubuna yakın bulunmuştur. Bu farklılık incelenen balığın türü, ağırlığı, uygulanan pestisit türü, konsantrasyonu ve süresinden kaynaklanabilir.

Son yıllarda insan ve ratlar üzerine yapılan çalışmalarda PON aktivitesi ile oksidatif stres arasında karşılıklı bir ilişki olduğu ileri sürülmüş fakat bu mekanizma tam olarak aydınlatılamamıştır (Aviram vd., 1999). Bu araştırmadaki PON ve ARE enzim aktivitesinde belirlenen azalma malathionun sebep olduğu oksidatif stresle ilişkilendirilebilir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

PON ve ARE enzim aktivitelerinin malathionun artan derişimine bağı olarak denemenin ilk günlerinde azaldığı, malathionun uygulanan düşük derişimlerinin etkisinde bile *C. carpio*'da serum ve karaciğer dokusunda toksik etki oluşturduğu belirlenmiştir.

Bu sonuçlar malathion uygulamasının balıklarda strese neden olduğunu göstermiştir. Diğer taraftan uygulamanın 21. gününde incelenen enzim aktivitelerinin artması ve hemen hemen kontrol değerine yakın bir düzeye çıkması, malathionun neden olduğu stresin vücut tarafından bertaraf edilmeye çalışıldığının bir işaretidir.

Buna göre PON ve ARE enzim aktivitesi pestisit toksisitesini belirlemede biyobelirteç olarak kullanılabilir.

Fakat farklı balık türlerinde, farklı süre ve konsantrasyonlarda pestisit uygulamalarının sonuçlarına ihtiyaç olduğu görülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Altinok I., Capkın, E. and Boran, H.,** 2012. Mutagenic, genotoxic and enzyme inhibitory effects of carbosulfan in rainbow trout *Orconhynchus mykiss*, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **102**, 61-67.
- Amy, J., McMichael-Maria, K. and Hordinsky, C.,** 2008. Hair and Scalp Diseases, Medical, Surgical, and Cosmetic Treatments, Informa Health Care, 289.
- Anonim,** Mesleki Eğitimi Geliştirme Projesi (MEGEP), Çevre Sağlığı, Pestisitler, Milli Eğitim Bakanlığı Yayınları, Yayın Kodu: 850CK0054, Ankara, 2012.
- Arda, M., Seçer, S. ve Sarıeyyüpoğlu, M.,** 2005. Balık Hastalıkları, Medisan Yayın Serisi: 61, 230s, Ankara.
- Atamanalp, M. ve Yanık, T.,** 2001. Pestisitlerin Cyprinidae'lere Toksik Etkileri, *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, **18 (3-4)**, 555-563.
- Atamanalp, M. ve Cengiz, M.,** 2002. Bir Sentetik Piretroit İnsektisit (Cypermethrin)'in Sublethal Dozlarının *Capoeta capoeta capoeta* (Güldenstaedt, 1772)'da Hemoglobin, Hematokrit ve Sediment Seviyeleri Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi, *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, **19 (1-2)**, 169-175.
- Aviram, M., Rosenbalt, M., Billecke, S., Erogul, J., Sorenson, R., Bisgaier, C.L., Newton, R.S. and La Du, B.,** 1999. Human serum paraoxonase (pon 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants, *Free Radical Biology & Medicine*, **26**, 892-904.
- Azarsız, E. ve Sönmez E.Y.,** 2000. Paraoksonaz ve klinik önemi, *Türk Biyokimya Dergisi*, **25**, 109-119.
- Bakal, N.H.,** 2010. Malathion İnsektisitinin *Poecilia reticulata* (Peters, 1859) Üzerindeki Akut Toksik Etkisi, *Yüksek Lisans Tezi*, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Bastos, V.L.F.C., Folly, E., Rossini, A., Ceccarelli, P.S., Senhorini, J.C. and Bastos, J.C.,** 1998a. Paraoxonase activity in liver of Pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (Characidae), *Revista Brasileira Zoologica*, **15(5)**, 677-685.
- Bastos, V.L.F.C., Rossini, A., Alves, M.V., Ceccarelli, P.S., Ferraz de Lima, J.A. and Bastos, J.C.,** 1998b. Paraoxonase activity in sera from *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (Characidae) and *Hypostomus punctatus* Valenciennes (Siluridae), *Revista Brasileira Zoologica*, **15 (3)**, 665-675.
- Bastos, V.L.F.C., Alves, M.V., Bernardino, G., Ceccarelli, P.S. and Bastos, J.C.,** 2004. Paraoxonase Activity in Sera of Four Neotropical Fish, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **72**, 798–805.

- Başkol, G. ve Köse, K.,** 2004. Paraoksonaz: Biyokimyasal özellikleri, fonksiyonları ve klinik önemi, *Erciyes Tıp Dergisi*, **26 (2)**, 75-80.
- Beyaztaş, S., Türker, D., Sinan, S. ve Arslan, O.,** 2007. *Cyprinus carpio* paraoksonaz enziminin bazı ağır metallerle inhibisyon etkisinin incelenmesi, 21. Ulusal Kimya Kongresi, 23-27 Ağustos, Malatya.
- Bonner, M.R., Coble, J. and Blair, A.,** 2007. Malathion exposure and the incidence of cancer in the agricultural health study, *American Journal of Epidemiology*, **166(9)**, 1023-1034.
- Can Demirdöğen, B.,** 2010. Organofosfatlı Pestisit Zehirlenmeleri ve Serum Paraoksonaz 1 (PON1) Enziminin Organofosfat Metabolizmasındaki Rolü, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, **67(2)**, 97-112.
- Dubravka, J., Milena, T., Branka, R., Vrea, S.R., Elsa, R. and Martin, B.,** 2001. Serum paraoxonase activities in the hemodialyzed uremic patients: Chort study, *Clinical Science*, **42**, 146-150.
- Durrington, P.N., Mackness, B. and Mackness, M.I.,** 2001. Paraoxonase and atherosclerosis, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **21**, 473-480.
- Deveci, H.A., Kaya, İ., Yılmaz, M and Karapehlivan, M.,** 2015. Effect of Zinc Sulphate on the Levels of Plasma Paraoxonase Activity, Total Oxidant and High Density Lipoprotein of Transcaucasian Barb (*Capoeta capoeta* Guldenstaedt, 1773), *Fresenius Environmental Bulletin*, **24(9)**, 2732-2735.
- Erdağ, D.,** 2012. Malatyon Verilen Farelerde Oksidasyon Parametreleri Üzerine *Allium czelghauricum* (Liliaceae), *Iathyrus karsianus* (Fabaceae) ve *Onosma nigricaula* (Boraginaceae)'den elde edilen ekstraktların etkileri, *Doktora Tezi*, Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- Ermiş, U.,** 2014, Malation ve Dimetoat İçeren Bazı Pestisit Preparatlarının Fare Kemik İliği Hücrelerinde Genotoksik Etkilerinin Araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi*, Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- Folly, E., Bastos, V.L.C., Alves, M.V., Bastos, J.C. and Atella, G.C.,** 2001. A high density lipoprotein from *Piaractus mesopotamicus*, pacu, (Osteichthyes, Characidae), is associated with paraoxonase activity, *Biochimie*, **83**, 945-951.
- Fulton, M.H. and Key, P.B.,** 2001. Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorous insecticide exposure and effects, *Environmental Toxicology and Chemistry*, **20**, 37-45.
- Gan, N., Smolen, A., Eckerson, W. and La Du B.N.,** 1991. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase, Evidence for one esterase catalyzing both activities, *Drug Metabolism and Disposition*, **19**, 100-106.

- Güler, Ç. ve Çobanoğlu, Z.,** 1997. Pestisitler, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi, T.C. Sağlık Bakanlığı Yayınları, 8-37, Ankara.
- Güley, M. ve Vural, N.,** 1978. Toksikoloji, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları 48, 336s, Ankara.
- Gürsu, M.F. ve Özdin, M.,** 2002. Sigara içenlerde serum paraoksonaz (PON1) aktiviteleri ile malondialdehit düzeylerinin araştırılması, *Fırat Tıp Dergisi*, **7**, 732-737.
- Hai, D.Q., Varga, S.Z.I. and Matkovics, B.,** 1997. Organophosphate effects on antioxidant system of carp (*Cyprinus carpio*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*), *Comparative Biochemistry and Physiology*, **117c**, 83-88.
- Kalaycı, Ş.,** 2010. SPSS Uygulamalı Çok Değişkenli İstatistik Teknikleri, Asil Yayınları, Ankara.
- Karasu Benli, A.Ç. ve Gülen, Z.,** 2009. Fenitrothion'un Etkisinde Bırakılan Tilapia'da (*Oreochromis niloticus* L.) Sekonder Stres İndikatörleri Hematokrit ve Plazma Glukoz Seviyesinin Değişimi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, **19(1)**, 19-22.
- Karataş, T. ve Kocaman, E.M.,** 2012. Comparison of Paraoxonase Activity, Malondialdehyde and High-Density Lipoprotein Levels in Cultivated Normal and Albino Rainbow Trout Reared in the Same Conditions, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **18(1)**, 87-90.
- Karataş, T. ve Kocaman, E.M.,** 2014. Susceptibility to oxidative damage in wild and cultured brook trouts (*Salvelinus fontinalis* Mitchell, 1815), *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, **2(1)**, 180-183.
- Kaur, K. and Dhawan, A.,** 1993. Variable sensitivity of *Cyprinus carpio* eggs, larvae, and fry to pesticides, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **50(4)**, 593-599.
- Kaya, S., Pirinçci, İ. Ve Bilgili, A.,** 2002. Pestisitler, Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji, Medisan Yayınevi, 385-401, Ankara.
- Kocaçalışkan, İ. ve Bingöl, N.A.,** 2008. Biyoistatistik, Nobel Yayınları, Yayın No: 1305, Ankara.
- La Du, B.N., Aviram, M., Billecke, S., Navab, M., Primo-Parmo, S., Sorenson, R.C. and Standiford, T.J.,** 1999. On the physiological role(s) of the paraoxonases, *Chemico Biological Interactions*, **119-120**, 379-388.
- Li, W.F., Costa, L.G. and Furlong, C.E.,** 1993. Serum paraoxonase status: A major factor in determining resistance to organophosphates, *Journal of Toxicology and Environmental Health*, **40**, 337-346.

- Lock, E.A. and Reed, C.J.,** 1998. Xenobiotic metabolizing enzymes of the kidney, *Toxicologic Pathology*, **26**, 18-25
- Mackness, M.I., Walker, C.H. and Carson, L.A.,** 1987. Low 'A'-esterase activity in serum of patients with fish-eye disease, *Clinical Chemistry*, **3**, 587-588.
- Mackness, M.I., Mackness, B., Durrington, P.N., Connely, P.W. and Hegele, R.A.,** 1996. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins, *Current Opinion Lipidology*, **7**, 69-76.
- Mackness, M.I., Arrol, S.I., Mackness, B. and Durrington, P.N.,** 1997. Allo-enzymes of paraoxonase and effectiveness of high density lipoproteins in protecting low density lipoprotein against lipid peroxidation, *Lancet*, **349**, 851-852.
- Mishra, J. and Srivastava, A.K.,** 1983. Malathion induced hematological and biochemical changes in the Indian catfish *Heteropneustes fossilis*, *Environmental Research*, **30**, 393-398.
- Mişe Yonar, S,** 2013. Toxic Effects of Malathion in Carp, *Cyprinus carpio carpio*: Protective Role of Lycopene, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **97**, 223-229.
- Mişe Yonar, S., Ural, M.Ş., Yonar, M.E. and Silici, S.,** 2014. Malathion-Induced Changes in the Haematological Profile, the Immune Response, and the Oxidative/antioxidant Status of *Cyprinus carpio carpio*: Protective Role of Propolis, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **102**, 202-209.
- Ören, P.,** 2009, Malathion'un *Oreochromis niloticus*'ta oksidatif stres kaynaklı endokrin bozucu etkileri, *Yüksek Lisans Tezi*, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Özay, Ö. ve Arslantaş, D.,** 2016. Pestisit Maruziyeti ve Nöropsikiyatrik Etkileri, *Osmangazi Tıp Dergisi*, **38 (Özel Sayı 1)**, 42-48.
- Özkaya, G., Çeliker, A. ve Koçer Giray, B.,** 2013. İnsektisit zehirlenmeleri ve Türkiye'deki durumun değerlendirilmesi, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, **70(2)**, 75 - 102.
- Özdin, M. ve Gürsu, M.F.,** 2003. Koroner kalp hastaları ile çeşitli risk faktörlerini taşıyan bireylerde paraoksonaz 1 ve arilesteraz aktiviteleri ile fenotiplerinin araştırılması, *Uzmanlık Tezi*, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ.
- Öztürk, D.,** 2009. *Cyprinus carpio*'da malathion etkisinde lipid peroksidasyonu ve serum steroid hormon düzeylerindeki değişimler, *Yüksek Lisans Tezi*, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana
- Ritola, O., Lyytikäinen, T., Pylkkö, P., Mölsä, H. and Lindström-Seppä, P.,** 2000, Glutathione-dependent defence system and monooxygenase enzyme

activities in Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.) exposed to ozone, *Aquaculture*, **185**, 219-233.

Rodrigo, L., Hernandez, F., Caballero, L., Gil, F. and Pla, A., 2001. Immunohistochemical evidence for the expression and induction of paraoxonase in rat liver, kidney, lung and brain tissue. Implications for its physiological role, *Chemico Biological Interactions*, **137**, 123-137.

Sayın, D., Türker Çakır, D., Gençer, N. and Arslan, O., 2012. Effects of some metals on paraoxonase activity from shark *Scyliorhinus canicula*, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **27(4)**, 595-598.

Sümbüloğlu, K., 1998. Biyoistatistik, Hatipoğlu Yayınevi, Yayın No: 53, Ankara.

Trenzado, C., Carmen H.M., Gallego, M.G., Morales, A.E., Furne, M., Domezain, A., Domezain, J. and Sanz, A., 2006, Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in sturgeon *Acipenser naccarii* and trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study, *Aquaculture*, **254**, 758-767.

Tuğyan, K., Tuğyan, N., Erbil, G., ve Buldan, Z., 2005. Malathion'un böbrek üzerine etkilerinin ultrastrüktürel incelenmesi: deneysel çalışma, *Türkiye Ekopatoloji Dergisi*, **11(2)**, 51-57.

Türkoğlu, S., Gülcü Bulmuş, F., Parmaksız, A., Özkan, Y., ve Gürsu, F., 2008. Metabolik Sendromlu Hastalarda Paraoksonaz 1 ve Arilesteraz Aktivite Düzeyleri, *Fırat Tıp Dergisi*, **13(2)**, 110-115.

Uslu, O., ve Türkman, A., 1987. Su Kirliliği ve Kontrolü, T.C. Başbakanlık Çevre Genel Müdürlüğü Yayınları Eğitim Dizisi, 365s, Ankara.

Yavuz Erdoğan, B., 2010. Samsun'da Yaygın Olarak Kullanılan Pestisitlerin Sağlığa ve Çevreye Etkileri, *Alınteri*, **19(B)**, 28-35.

Yavuz Kocaman, A., 2007. Acetamiprid ve Alpha-cypermethrin Pestisidlerinin Tek Başına ve Karışım Halinde Kullanıldıkları Zaman İnsan Periferik Lenfositlerindeki *İn vitro* Genotoksik Etkileri, *Doktora Tezi*, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

Yonar, M.E., 2008. *Yersinia ruckeri* ile enfekte edilen gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın tedavisinde propolis kullanılması, *Doktora Tezi*, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.

Yonar, M.E., Mişe Yonar, S., Çoban, M.Z. and Eroğlu, M., 2012. The Effect of Propolis on Serum Paraoxonase and Arylesterase Enzyme Activities in *Cyprinus carpio* During Chromium Exposure, *Fresenius Environmental Bulletin*, **21(6)**, 1399-1402.

ÖZGEÇMİŞ

Erzurum’da 1989 tarihinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Erzurum’da tamamladım. Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi’ni 2007 yılında kazandım. Bu fakülteden 2013 yılında mezun oldum. Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı’nda 2013 yılında yüksek lisans yapmaya başladım.

Tuğçe KILIÇ

