

**T.C.
ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Oreochromis niloticus*'UN KARACİĞER DOKUSUNDAKİ ANTİOKSİDAN
SİSTEMLER VE LİPİD PEROKSİDASYONU ÜZERİNE CHLORPYRİFOS,
EMAMECTİN BENZOATE VE ABAMECTİN TÜRÜ PESTİSİTLERİN
ETKİLERİ**

RAMAZAN TUTUŞ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

2016

**T.C.
ADİYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***Oreochromis niloticus*'UN KARACİĞER DOKUSUNDAKİ ANTİOKSİDAN
SİSTEMLER VE LİPİD PEROKSİDASYONU ÜZERİNE CHLORPYRİFOS,
EMAMECTİN BENZOATE VE ABAMECTİN TÜRÜ PESTİSİTLERİN
ETKİLERİ**

**Ramazan TUTUŞ
Yüksek Lisans Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı**

Bu tez 15/01/2016 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

**Doç. Dr. Özgür FIRAT
BAŞKAN (DANIŞMAN)**

**Doç. Dr. Hikmet Y. ÇOĞUN
ÜYE**

**Yrd. Doç. Dr. Hasan KARADAĞ
ÜYE**

**Doç. Dr. Ramazan GÜRBÜZ
Enstitü Müdürü**

Bu çalışma Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: FEFYL/2014-0008

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirimlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

***Oreochromis niloticus*'UN KARACİĞER DOKUSUNDAKİ ANTİOKSİDAN SİSTEMLER VE LİPİD PEROKSİDASYONU ÜZERİNE CHLORPYRİFOS, EMAMECTİN BENZOATE VE ABAMECTİN TÜRÜ PESTİSİTLERİN ETKİLERİ**

Ramazan TUTUŞ

Adıyaman Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Özgür FIRAT
Yıl: 2016, Sayfa Sayısı: 88

Jüri : Doç. Dr. Özgür FIRAT
: Doç. Dr. Hikmet Y. ÇOĞUN
: Yrd. Doç. Dr. Hasan KARADAĞ

Sunulan çalışmada organofosforlu insektisit chlorpyrifosun (CPF) ve avermectin insektisitler olan abamectin (ABM) ve emamectin benzoatın (EB) *Oreochromis niloticus*'ta hedef organ olarak seçilen karaciğerdeki antioksidan parametreler ve lipid peroksidasyonu üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla balıklar CPF, ABM ve EB'nin 5.0 ve 10.0 ppb ortam derişimlerinin etkisine 48 ve 96 saatlik süreler ile bırakılmış ve katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon redüktaz (GR) enzim aktiviteleri ile glutatyon (GSH) ve malondialdehit (MDA) düzeyleri belirlenmiştir.

İncelenen tüm biyokimyasal parametrelerde pestisite, ortam derişimine ve etki süresine bağlı olarak önemli değişimlerin meydana geldiği belirlenmiştir. CAT aktivitesi CPF etkisinde 48 saatlik süre sonunda artış, 96 saatlik süre sonunda ise bir azalış göstermiştir. ABM etkisinde her iki sürede ve yüksek ortam derişimlerinde CAT aktivitesi azalmıştır. EB'nin yüksek ortam derişiminde ve ilk etkileşim süresi sonunda ise CAT aktivitesi artış göstermiştir.

SOD aktivitesi denenen tüm pestisitlerin etkisinde her iki etki süresinde de azalış göstermiştir. GR aktivitesinin CPF, ABM ve EB'nin etkisinde 96 saatlik süre sonunda özellikle de yüksek ortam derişimlerinde azaldığı belirlenmiştir.

GSH düzeyi CPF etkisinde 48 saatlik süre sonunda artarken; 96 saatlik süre sonunda azalmıştır. ABM ve EB'nin etkisinde ise 96 saatlik süre sonunda ve yüksek ortam derişiminde GSH düzeyinde azalış saptanmıştır. MDA düzeyi ise denenen tüm pestisitlerin etkisinde 96 saatlik süre sonunda ve yüksek ortam derişimde artış göstermiştir.

Sonuç olarak incelenen tüm parametreler üzerine pestisitlerin etkilerinin CPF>ABM>EB şeklinde olduğu ve bu pestisitlerin *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda oksidatif strese neden olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Oreochromis niloticus*, Chlorpyrifos, Abamectin, Emamectin benzoat, Antioksidan parametreler, Malondialdehit

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECTS OF CHLORPYRIFOS, EMAMECTIN BENZOATE AND ABAMECTIN PESTICIDES ON ANTIOXIDANT SYSTEMS AND LIPID PEROXIDATION IN LIVER TISSUE OF *Oreochromis niloticus*

Ramazan TUTUŞ

Adiyaman University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Özgür FIRAT
Year: 2016, Number of Pages: 88

Jury : Assoc. Prof. Dr. Özgür FIRAT
: Assoc. Prof. Dr. Hikmet Y. ÇOĞUN
: Asst. Prof. Dr. Hasan KARADAĞ

In the present study, it was investigated effects of organophosphate insecticide chlorpyrifos (CPF) and avermectin insecticides abamectin (ABM) and emamectin benzoate (EB) on antioxidant parameters and lipid peroxidation in liver chosen as target organ in *Oreochromis niloticus*. For this purpose fish were exposed to 5.0 and 10.0 ppb of CPF, ABM and EB for 48 and 96 hours and activities of catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione reductase and levels of glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) were determined.

Significant alterations in all analyzed biochemical parameters were observed due to pesticide, medium concentration and exposure period. In fish exposed to CPF, CAT activity increased after 48-h whereas it decreased after 96-h. In higher concentrations, it was observed CAT activity declined in 48- and 96-h ABM-exposed fish, whereas it elevated in 48-h EB-exposed ones.

SOD activity showed a decrease in all the tested pesticide exposures after both periods. Also CPF, ABM and EB caused a decline in GR activity after 96-h, especially in their higher concentrations.

In CPF-exposed fish, although GSH level elevated after 48-h, it decreased at the end of the exposure period. In 96-h ABM- and EB-exposed fish, GSH level declined in their higher concentrations. It was observed an increase in MDA levels of fish exposed to higher concentrations of CPF, ABM and EB for 96 h.

In conclusion, it was determined the effects of pesticides on analyzed all parameters were as CPF>ABM>EB and these pesticides caused oxidative stress in the liver of *O. niloticus*.

Keywords: *Oreochromis niloticus*, Chlorpyrifos, Abamectin, Emamectin benzoate, Antioxidant parameters, Malondialdehyde

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca her türlü yardım ve fedakârlığı sağlayan, bilgisi, yeteneği ve güler yüzü ile çalışmama yol veren ve bana bu çalışmayı vererek akademik kariyerimdeki ilk adımımı atmamı sağlayan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Özgür FIRAT'a içtenlikle teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalarım sırasında birçok yardımını gördüğüm Sayın Doç. Dr. Hikmet Yeter ÇOĞUN, Yrd. Doç. Dr. Hasan KARADAĞ, Öğr.Gör.Dr. Tüzün AYTEKİN ve Öğr.Gör.Dr. Özge FIRAT'a çok teşekkür ederim.

Bu çalışmamı yaptığım tüm süre boyunca aldığım her nefeste yanımda olan ve benden maddi, manevi hiçbir desteğini eksik etmeyen canım annem Halise TUTUŞ'a ve babam Ensari TUTUŞ'a ayrıca biricik kız kardeşlerim Seda TUTUŞ ve Revşen TUTUŞ'a tüm kalbimle teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmalarımızı maddi olarak destekleyen Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine de teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM	17
3.1. Materyal	17
3.1.1. Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler	18
3.1.2. Deneylerde kullanılan cihazlar	18
3.2. Yöntem	19
3.2.1. Doku örneklerinin alınması ve biyokimyasal analizler	19
3.2.1.1. Doku homojenatlarının hazırlanması	20
3.2.1.2. CAT aktivite tayini	20
3.2.1.3. SOD aktivite tayini	21
3.2.1.4. GR aktivite tayini	23
3.2.1.5. GSH düzeyi tayini	24
3.2.1.6. MDA düzeyi tayini	26
3.2.1.7. Protein düzeyi tayini	26
3.3. İstatistik	28
4. BULGULAR	29
4.1. Pestisitlerin CAT Aktivitesi Üzerine Etkileri	29
4.2. Pestisitlerin SOD Aktivitesi Üzerine Etkileri	35
4.3. Pestisitlerin GR Aktivitesi Üzerine Etkileri	41
4.4. Pestisitlerin GSH Düzeyi Üzerine Etkileri	47
4.5. Pestisitlerin MDA Düzeyi Üzerine Etkileri	53
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	59

KAYNAKLAR	72
ÖZGEÇMİŞ	89
EK - 1	90

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1.	Süperoksit Dismutaz Yöntemi	22
Çizelge 3.2.	Glutasyon Redüktaz Yöntemi	23
Çizelge 3.3.	Redükte Glutasyon Yöntemi	25
Çizelge 3.4.	Protein Yöntemi	27
Çizelge 4.1.	Chlorpyrifosun farklı ortam derişimlerinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki CAT aktivitesine (U/mg protein) etkileri	29
Çizelge 4.2.	Abamectinin farklı ortam derişimlerinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki CAT aktivitesine (U/mg protein) etkileri	31
Çizelge 4.3.	Emamectin benzoatın farklı ortam derişimlerinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki CAT aktivitesine (U/mg protein) etkileri	32
Çizelge 4.4.	Chlorpyrifosun farklı ortam derişimlerinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki SOD aktivitesine (U/mg protein) etkileri ...	35
Çizelge 4.5.	Abamectinin farklı ortam derişimlerinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki SOD aktivitesine (U/mg protein) etkileri	37
Çizelge 4.6.	Emamectin benzoatın farklı ortam derişimlerinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki SOD aktivitesine (U/mg protein) etkileri	38
Çizelge 4.7.	Chlorpyrifosun farklı ortam derişimlerinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki GR aktivitesine (U/mg protein) etkileri	41
Çizelge 4.8.	Abamectinin farklı ortam derişimlerinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki GR aktivitesine (U/mg protein) etkileri	43
Çizelge 4.9.	Emamectin benzoatın farklı ortam derişimlerinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki GR aktivitesine (U/mg protein) etkileri	44
Çizelge 4.10.	Chlorpyrifosun farklı ortam derişimlerinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki GSH düzeyine (µmol/g protein) etkileri	47
Çizelge 4.11.	Abamectinin farklı ortam derişimlerinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki GSH düzeyine (µmol/g protein) etkileri	49

Çizelge 4.12. Emamectin benzoatın farklı ortam derişimlerinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki GSH düzeyine ($\mu\text{mol/g}$ protein) etkileri	50
Çizelge 4.13. Chlorpyrifosun farklı ortam derişimlerinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki MDA düzeyine (nmol/mg protein) etkileri..	53
Çizelge 4.14. Abamectinin farklı ortam derişimlerinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki MDA düzeyine (nmol/mg protein) etkileri	55
Çizelge 4.15. Emamectin benzoatın farklı ortam derişimlerinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki MDA düzeyine (nmol/mg protein) etkileri	56

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1.	Chlorpyrifosun kimyasal yapısı	4
Şekil 1.2.	Abamectinin kimyasal yapısı	6
Şekil 1.3.	Emamectin benzoatın kimyasal yapısı	8
Şekil 3.1.	Standart protein grafiği	28
Şekil 4.1.	Chlorpyrifosun belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusu CAT aktivitesi üzerine etkisi	30
Şekil 4.2.	Abamectinin belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusu CAT aktivitesi üzerine etkisi	31
Şekil 4.3.	Emamectin benzoatın belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusu CAT aktivitesi üzerine etkisi	33
Şekil 4.4.	5.0 ppb pestisit ortam derişiminin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki CAT aktivitesi üzerine etkisi	34
Şekil 4.5.	10.0 ppb pestisit ortam derişiminin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki CAT aktivitesi üzerine etkisi	34
Şekil 4.6.	Chlorpyrifosun belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusu SOD aktivitesi üzerine etkisi	36
Şekil 4.7.	Abamectinin belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusu SOD aktivitesi üzerine etkisi	37
Şekil 4.8.	Emamectin benzoatın belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusu SOD aktivitesi üzerine etkisi	39
Şekil 4.9.	5.0 ppb pestisit ortam derişiminin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki SOD aktivitesi üzerine etkisi	40
Şekil 4.10.	10.0 ppb pestisit ortam derişiminin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki SOD aktivitesi üzerine etkisi	40
Şekil. 4.11.	Chlorpyrifosun belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusu GR aktivitesi üzerine etkisi	42
Şekil. 4.12.	Abamectinin belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusu GR aktivitesi üzerine etkisi	43

Şekil. 4.13. Emamectin benzoatın belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusu GR aktivitesi üzerine etkisi	45
Şekil. 4.14. 5.0 ppb pestisit ortam derişiminin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki GR aktivitesi üzerine etkisi	46
Şekil. 4.15. 10.0 ppb pestisit ortam derişiminin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki GR aktivitesi üzerine etkisi	46
Şekil. 4.16. Chlorpyrifosun belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusu GSH düzeyi üzerine etkisi	48
Şekil. 4.17. Abamectinin belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusu GSH düzeyi üzerine etkisi	49
Şekil. 4.18. Emamectin benzoatın belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusu GSH düzeyi üzerine etkisi	51
Şekil. 4.19. 5.0 ppb pestisit ortam derişiminin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki GSH düzeyi üzerine etkisi	52
Şekil. 4.20. 10.0 ppb pestisit ortam derişiminin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki GSH düzeyi üzerine etkisi	52
Şekil. 4.21. Chlorpyrifosun belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusu MDA düzeyi üzerine etkisi	54
Şekil. 4.22. Abamectinin belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusu MDA düzeyi üzerine etkisi	55
Şekil. 4.23. Emamectin benzoatın belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusu MDA düzeyi üzerine etkisi	57
Şekil. 4.24. 5.0 ppb pestisit ortam derişiminin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki MDA düzeyi üzerine etkisi	58
Şekil. 4.25. 10.0 ppb pestisit ortam derişiminin <i>O. niloticus</i> 'un karaciğer dokusundaki MDA düzeyi üzerine etkisi	58

SİMGELER VE KISALTMALAR

µg	: Mikrogram
g	: Gram
L	: Litre
mg	: Miligram
ABM	: Abamectin
CAT	: Katalaz
CPF	: Chlorpyrifos
EB	: Enamectin benzoat
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetikasit
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
GSH	: Redükte Glutasyon
GSSG	: Okside Glutasyon
GST	: Glutasyon S-Transferaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz

1. GİRİŞ

Dünya'daki nüfusun hızla yükseldiği çağımızda açlık sorununun çözülmesi için tarımsal üretimi arttırmada kimyasal ilaçlar kullanılmaktadır. Tarımsal ürünlerin üretiminde, ilaçlama yoluyla bu ürünlere bulaşan kimyasal ilaçlara pestisit adı verilmektedir. Ancak bu kimyasal maddeler üretim artışı sağlarken, aynı zamanda tarımsal ürünlerde ve çevrede kirliliğe de yol açmaktadır. Bu durum çevreyi ve insan sağlığını ciddi bir biçimde olumsuz etkileyebilmektedir. Dünya'da toplam ilaç kullanımı ve dünya nüfusu dikkate alındığında; 0.5 kg/birey/yıl veya 1.4 g/birey/gün tarım ilacı hesaplanmıştır. Yapılan araştırmalar, tarım ilaçlarının gelişmekte olan ülkelerde yılda ortalama 37.000 kanser vakasına neden olduğunu göstermektedir (Ayaz ve Yurttagül 2012).

Tarımsal üretimi arttırmak için pestisitlerin çok yaygın kullanımı, zararlı canlı türlerinin direnç kazanması, insan ve hayvanlardaki toksik etkileri gibi çeşitli toksikolojik ve çevresel problemlere neden olmaktadır. Dünya'da pestisit kullanımının dörtte biri gelişmekte olan ülkelerde olup, bu ülkelerde ciddi pestisit zehirlenmeleri sonucu hastalık ve ölümlere neden olmaktadır (Banerjee vd. 1999). Her yıl bu ülkelerde 3 milyon zehirlenme olayı görülmekte ve iki yüz bini ölümlle sonuçlanmaktadır (Banerjee vd. 1999). Pimentel (1995), uygulanan pestisitinin %0.1'den daha azının hedef zararlıya ulaştığını, geriye kalan %99,9'u istenmeyen şekilde bir kirlilik olarak çevrede oluştuğunu rapor etmiştir.

Pestisitler gelişigüzel bir şekilde geniş miktarlarda uygulama amaçlı kullanılırken bu durum çevresel kirliliğe ve insan sağlığında riske neden olmaktadır. Pestisitlerin sinir, immün ve endokrin sistemi, hücre zarlarını ve enzim aktivitelerini etkilediği bilinmektedir (Morgan ve Brunson 2002, Verma vd. 2007). Pestisitlerin farklı organizmaların doku ve hücrelerinde DNA yapısını modifiye etme, sperm kalitesinde düşme, ROT üretimi, antioksidan savunma sistemini etkileme ve ısı şok proteinlerinin indüklenmesi gibi birçok olumsuz etkileri rapor edilmiştir (Lee ve Steinert 2003, Verma vd. 2007, Topal vd. 2015).

Pestisitlerin kimyasal eleman, biyolojik ajan (virüs ve bakteriler için), antimikrobiyal, dezenfektan ya da pest adı verilen zararlılara karşı kullanılan bir kimyasal olduğu iyi bilinmektedir (Topal vd. 2015). Dünya çapında pestisit kullanımı

son yıllarda dramatik bir şekilde artmaktadır. Pestisitler tarımsal topraklarda ve yer altı ile yer üstü sularında bulunan organik kirleticilerdir. Ekolojik dengeyi bozmaktadırlar. Özellikle de akuatik sistemler üzerine toksikolojik etkilerini göstermektedirler.

Akuatik ekosistemler, evsel, endüstriyel ve tarımsal aktivitelerden gelen toksik kimyasallar tarafından sürekli olarak kirletilmektedir (Matos vd. 2007). Son yıllarda oldukça artan bu antropojenik aktivitelere bağlı olarak sucul ekosistemlerin bu kirlilikten olumsuz etkilendiği iyi bilinmektedir. Pestisitler tarımsal aktivitelerde kullanılan toksik bileşiklerin en önemli sınıflarından biridir (Matos vd. 2007). Tarımsal amaçlarla kullanılan pestisitler yüzey suları aracılığıyla sucul ekosistemlere girmekte, akuatik organizmalarda çok ciddi zararlara ve hatta ölümlere neden olmaktadır. Akuatik canlıların dokularındaki özellikle pestisitleri içeren kirleticilerin biyobirikimi insanların tüketimi açısından da çok zararlıdır.

Akuatik ekosistemler hemen tüm antropojenik deşarjların son alıcı ortamlarıdır. Pestisitler, püskürtme, atmosferik taşınım, tarımsal yüzey akışları, yanlış kullanım ve uygunsuz bertaraf edilmesi gibi çeşitli yollarla yeraltı ve yerüstü suları olmak üzere hemen tüm akuatik habitatlarda bulunmaktadır (Gilliom ve Hamilton 2006, Singh ve Singh 2008). Bu ekosistemler pestisit kirliliğine karşı oldukça açıktır ve bu da sucul yaşamı olumsuz etkilemektedir (Narra vd. 2015). Sucul ortamlara giren pestisitler; suda çözünürlüğü, sudaki organik maddelerle etkileşimi gibi fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak sucul ortamlarda geniş bir yayılım ve kalıcılık özelliği ile sucul organizmalarda ciddi sağlık problemlerine neden olabilmektedirler. Pestisitler, sucul canlılarda gelişmelerinde gerileme ve hastalıklara karşı daha duyarlı hale gelme gibi sonuçlara neden olabileceği gibi doğrudan ölümlerine de neden olabilmektedirler (Morgan ve Brunson 2002).

Tarımsal ekosistemlerdeki aşırı pestisit kullanımı, çevrede ciddi bir kontaminasyona neden olmaktadır (Tripathi ve Shasmal 2011). Sucul ve karasal ekosistemler devamlı olarak pestisitler tarafından kirletilmektedir. Bu kimyasallar akuatik yaşam üzerine ciddi etkiler ve balıkları da içeren hedef olmayan organizmalar üzerine toksik etkilerinin bir sonucu olarak önemli riskler oluşturmaktadırlar.

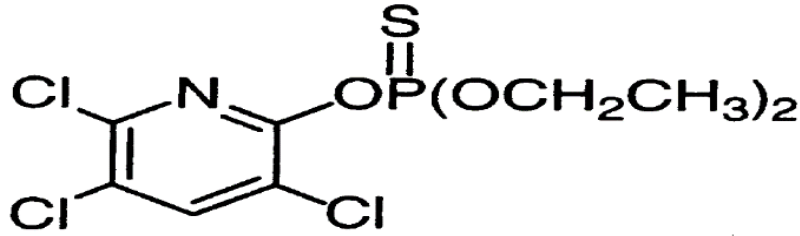
Balıklar su ortamlarının önemli canlı gruplarıdır. Balıkların akuatik ortamlardaki kirleticilerin potansiyel risklerini belirlemede önemli rolleri vardır, çünkü bu organizmalar doğrudan suda bulunan ve/veya besin zinciri ile kirleticilerle etkileşim

halindedir. Balıklar, kirleticilere karşı çok hassas organizmalar olduklarından ve ksenobiyotikleri vücutlarında biriktirme ve metabolize etme yetenekleri olduğundan akuatik ekosistemlerdeki kirliliğin izlenmesi için model bir organizma olarak çevre sağlığının değerlendirilmesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Fazio vd. 2013). Balıklar; besin zincirindeki rolleri, toksik bileşiklerin birikimi ve mutajenlerin düşük konsantrasyonlarına yanıtları gibi ekosistemlerdeki önemli rollerinden dolayı ekotoksikolojik çalışmalarda çok sıklıkla tercih edilmektedir (Cavas ve Ergene-Gözükara 2005). Bu nedenle kirleticilerin etkilerinin belirteci olarak balık biyobelirteçlerinin kullanımı toksikolojik çalışmalarda oldukça önemli olup sucul ortamlardaki çevresel kirliliğin belirlenmesinde ve izlenmesinde kullanılmaktadır (Van der Oost vd. 2003).

Pestisitler çeşitli şekillerde sınıflandırılabilirler. Yaygın olarak iki şekilde sınıflandırılmaktadırlar. İlki etkiledikleri organizma grubuna göre olup bunlar; insektisitler (böcek öldürücüler), rodentisitler (kemirgen öldürücüler), nematositler (yuvarlak solucan öldürücüler), herbisitler (bitki öldürücüler), fungusitler (mantar öldürücüler), algisitler (alg öldürücüler), olup ikincisi de bileşimindeki etkili maddeye göre olup bunlar da inorganik pestisitler (arsenikli, cıvalı, elementer kükürtlü, florürlü), sentetik organik pestisitler (organoklorür, organofosfat, karbamat ve organosülfürler) ve doğal organik pestisitlerdir (nikotin, rotenonlar, allethrin, ve pyrethrum) (Canyurt 1994, Alak vd. 2011).

Organofosfat pestisitler, tarımsal aktivitelerde ve halk sağlığında en yaygın olarak kullanılan insektisitlerdir (Sharbidre vd. 2011). Organofosfat pestisitler çevre ve canlılar üzerine olan göreceli güvenliğine ilişkin artan endişelere rağmen gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Narra vd. 2015). Organofosfatların dünya insektisit kullanımının %50'sini oluşturduğu bilinmektedir (Casida ve Quistad 2004). Bu aşırı kullanım organofosfatları toksisiteyi nedeniyle dikkat edilmesi gereken pestisitler olarak algılanmasına neden olmaktadır (Sharbidre vd. 2011). Organofosfat pestisitlerin asıl hedefi kas-sinir kavşaklarında ve kolinerjik sinapslarda asetilkolini hidroliz eden asetilkolin esterazlardır (Amitai vd. 1998). Bu durum sinapslarda asetilkolin birikimine neden olur, bu da kolinerjik yolda hiperaktiviteyi indükler (Verma vd. 2007).

Chlorpyrifos [O,O-diethyl-O-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl) phosphorothionate, Şekil 1.1] (CPF) tarımsal alanlar ve hayvan çiftliklerindeki çeşitli zararlıları kontrol etmek için dünya çapında geniş bir şekilde kullanılan etkili bir organofosfat pestisitir (Narra vd. 2015). CPF'nin, bir insektisit olup Dünya'da mısır, şekerpancarı ve diğer sebzelerde sıklıkla kullanılmaktadır (Racke vd. 1990). CPF, organofosfat pestisitler içerisinde en çok kullanılan ürünlerden birisidir ve organoklorlu pestisitlere göre balıklara çok daha toksik olabilmektedir (Tilak vd. 2001). Geniş spektrumlu bir organofosfat insektisit olan CPF, ticari olarak tarımsal ürünleri etkileyen yaprak böceklerinin ve toprak altı termitlerinin kontrolü için 10 yıldan daha fazla bir süredir kullanılmaktadır (Kavitha ve Venkateswara Rao 2008).



Şekil 1.1. Chlorpyrifosun kimyasal yapısı

CPF, hava ya da yüzey akışları ile doğal sulara girmekte, buradaki farklı organizmalarda özellikle de balıklarda birikmekte ve çeşitli zararlı etkilere neden olmaktadır. Bu organofosfat insektisitinin nörotansmitter asetilkolini, kolin ve asetata hızlı hidroliz eden kolinerjik sinapslarda nörotansmisyonunda önemli bir rol oynayan asetilkolin esterase enzimini inhibe ettiği iyi bilinmektedir (Kwong 2002). Organofosfatlarla yüksek düzeylerdeki etkileşim septomları; hiperaktivite, felç ve sonuçta da ölümdür (Fulton ve Key 2001). Organofosfat insektisitlerinin inhibitör etkisi, enzimlerin aktif bölgelerine bağlanma kapasitelerine ve davranış ile yaşla ilişkili fosforilasyon oranlarına bağlıdır ve geniş bir şekilde pestisit toksisitesinin belirlenmesinde erken uyarıcılar olarak kullanılmaktadır (Dutta ve Arends 2003).

Yaygın kullanılabilirliği ve suda çözünürlüğü ile CPF birçok ülkede yer altı ve yer üstü sularında kirletici bir madde olarak sıklıkla belirlenmiştir (Banks vd. 2005). CPF, yarı ömrü birkaç günden aylara kadar süren çevrede kalıcı olarak bulunan bir kimyasaldır (Palma vd. 2009). CPF, yüzey sularında 0.01 – 1.95 µg/L olarak bulunduğu

belirlenmiştir (Palma vd. 2009). Bununla birlikte sivrisineklerin kontrolü için doğrudan suya uygulamalarında ya da tarımsal akışlarla ulaşılan nehir ve göllerle 4.3 µg/L'ye kadar ulaştığı belirlenmiştir (Wood ve Stark 2002).

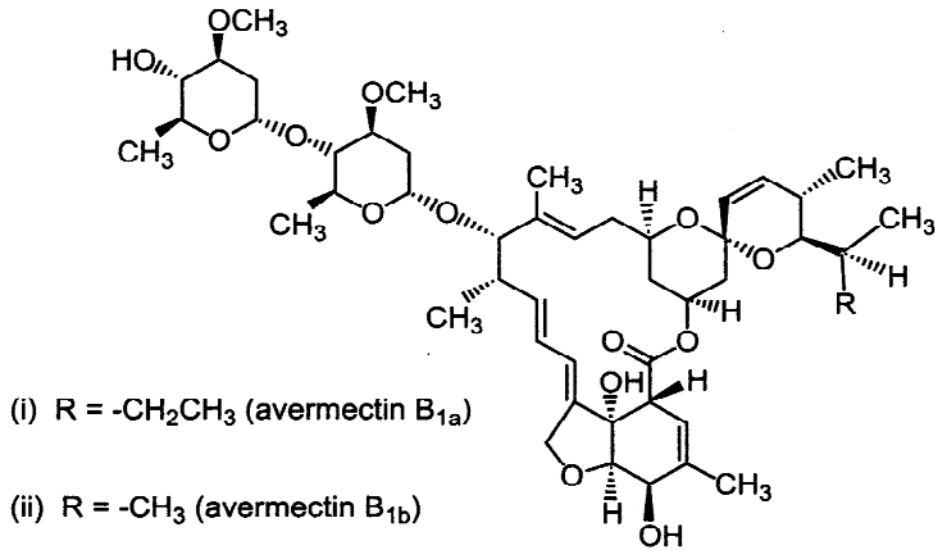
CPF'nin toksik etkileri artan bir şekilde insan sağlığını ve akuatik organizmaları etkilemektedir (Xing vd. 2012). Su ortamlarına giren CPF sucul ekosistemlerde kirliliğe ve buna bağlı olarak da balık sağlığında hasarlara neden olmaktadır. CPF balıklara oldukça toksiktir ve pestisitlerin uygulama alanına yakın yerlerdeki sucul sistemdeki balıklarda ölümler gözlenmiştir (USEPA 2000). Balıkların organofosfatla muamelesinin glukoz-6-fosfat dehidrojenaz, alkalin fosfat, piruvat dehidrojenaz, suksinik dehidrojenaz, asetilkolin esteraz, laktat dehidrojenaz, malat dehidrojenaz, sitokrom oksidaz gibi çeşitli enzim aktivitelerini inhibe ettiği belirlenmiştir (Devraj vd. 1991, Satyadevan vd. 1993, Kumble vd. 1999). Yine CPF oksidatif strese neden olmakta ve antioksidatif ve fizyolojik aktiviteleri engellemektedir (Tripathi ve Shasmal 2010, Yonar vd. 2012). Ayrıca CPF'nin karaciğer fonksiyon bozuklukları, immünolojik anormallikler, embriyo toksitesi, genotoksitesi, teratojenik etki ile nörokimyasal ve nörodavranış değişiklikleri gibi diğer birçok etkilere de neden olduğu belirtilmektedir (Dam vd. 1999, Song vd. 1998).

Avermectinler doğal olarak toprakta yaşayan actinomycete (*Streptomyces avermectilis*) bakterisi tarafından fermentasyon ürünü olarak 16 elemanlı makrosiklik laktonlardan oluşur (Raftery ve Volz 2015). 1970'li yıllarda Japonya'da toplanan bir toprak örneğinden izole edilmiştir. Bu bileşikler potansiyel olarak antihelmintik ve antiparazitik özelliklere sahiptir (Rugg vd. 2010). Etki mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılmamasına rağmen avermectinler omurgalı ve omurgasız canlılarda glutamat-ve/veya alfaaminobütirik asit (GABA)-duyarlı klor kanallarının doğrudan aktivasyonunu sağlayarak paralizize ve sonuçta da ölüme neden olabilecek nörotoksik etkilere neden olduğu düşünülmektedir (Sanchez-Bayo 2012). Spesifik etki mekanizması ile ilgili belirsizlikler olmasına rağmen avermectinler son 30 yıldan fazladır hayvan sağlığı ve tarımsal ürünlerin korunmasında geniş çapta kullanılmaktadırlar (Raftery ve Volz 2015).

Avermectinler her biri 1 major (A_{1a} , A_{2a} , B_{1a} , B_{2a}) ve 1 minör (A_{1b} , A_{2b} , B_{1b} , B_{2b}) eleman içeren dört ilişkili bileşikten oluşmaktadır (A_1 , A_2 , B_1 , B_2) (Jansson vd. 1996). Avermectinler nematisidal, akarisidal ve insektisidal etkili kimyasallardır (Ali

vd. 1997). Avermectinler, abamectin, ivermectin ve doramectini kapsamaktadır (Casali-Pereira vd. 2015). Bunlar tarımsal alanlardaki yaygın zararlıların geniş bir spektrumuna karşı oldukça etkilidirler ve bu da avermectinleri en geniş bir şekilde kullanılan parazitler sınıfına koymaktadır. Avermectinlerin keza etkili veteriner ilacı ve sivrisinek kontrol ajanları olarak da kullanıldığı rapor edilmektedir (Pridgeon vd. 2009).

Abamectin (% 80 Avermectin B_{1a} (5-0 demethyl Avermectin A_{1a}) ve % 20 Avermectin B_{1b} (5-0-dimethyl-25-de(-(1-methylpropyl)-25-(1-methylethyl) Avermectin A_{1a}, Şekil 1.2) (ABM), büyük halkalı lakton disakkarit bileşiklerinin bir türüdür ve toprakta yaşayan actinomycete *S. avermitilis*'in doğal fermentasyon ürünüdür (Luo vd. 2013). ABM oldukça lipofilik karakterlidir ve hem biyosit hem de antihelmintik ilaç olarak kullanılmaktadır (Ma vd. 2014). ABM, tarımsal uygulamalarda ve evcil hayvanlarda anti parazit ilacı olarak yaygın bir şekilde kullanılan avermectinler ailesinin bir üyesidir (Nasr vd. 2015). ABM, benzer biyolojik ve toksikolojik özelliklere sahip %80 avermectin B_{1a} , %20 avermectin B_{1b}'den oluşan bir avermectin karışımıdır (Campbell 1989).



Şekil 1.2. Abamectinin kimyasal yapısı

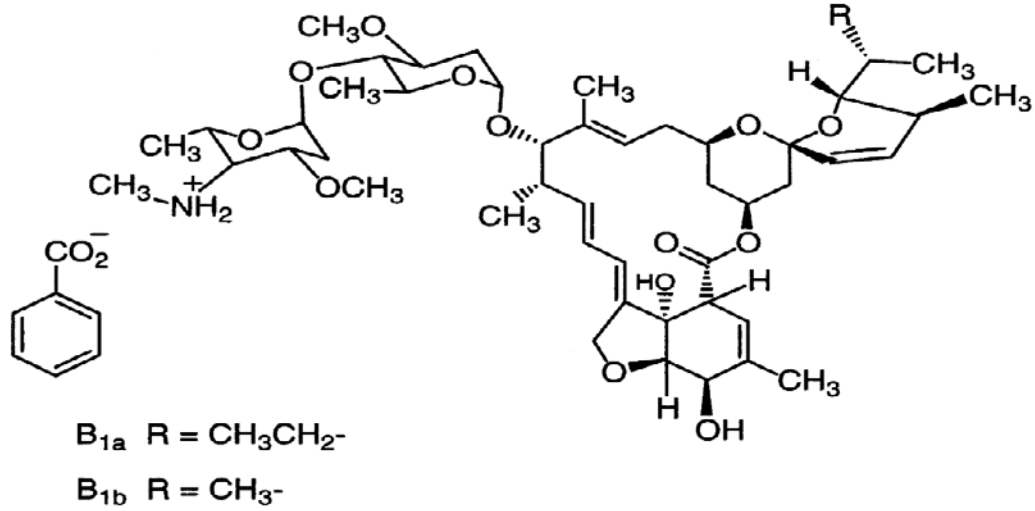
ABM, geniş bir şekilde; meyve, sebze ve süs bitkileri gibi tarımsal ürünlerde, böcek ve akarların kontrolünde kullanılmaktadır (Lankas ve Gordon 1989). Bu pestisit keza evlerde karınca ve hamamböceği kontrolü içinde kullanılmaktadır (Campbell 1989). ABM sinir sistemini etkileyerek böceklerin paralizine neden olan bir insektisit olarak davranmaktadır (Nasr vd. 2015). ABM, GABA ve glutamat duyarlı klor kanalları üzerine etkili olup yüksek konsantrasyonlarda klor iyon kanallarının aktivasyonlarına neden olmakta ve zararlıları felç etmektedir (Bloomquist 2001).

ABD’de 1992’den 2005 yılına kadar her yıl yaklaşık 4.5 ton avermectin kullanılmıştır (Raftery ve Volz 2015). ABM, 2006–2009 yıllarında her yıl yaklaşık olarak 18–22 ton arasında ABD’de pamuk üzerindeki zararlıları kontrol etmek için kullanılmıştır (US Geological Survey 2011). 2011 yılında ise ABM kullanımı 2 katına çıkmış ve yaklaşık 45 ton Abamectin tarımsal amaçlar için sadece Amerika’da kullanılmıştır (US Geological Survey 2011).

ABM’in ortamdaki kalıcılığı çok yüksektir (Raftery ve Volz 2015). ABM oldukça lipofilik, toprağa kuvvetlice absorbe olabilen, hızlı bir şekilde fotolize uğrayarak uygulandığı tarımsal alanlardan yer altı ve yerüstü kaynaklarına taşınabilen bir pestisittir. Bu pestisit memelilere düşük toksisiteye sahipken balıklarda beyin–kan bariyerini geçebilmekte ve ciddi toksik etkiler göstermektedir (Hoy vd. 1990). ABM ile ilgili akuatik organizmalarla yapılan laboratuvar toksisite testlerinde özellikle omurgasız grupların bu pestisite çok hassas oldukları gösterilmiştir (Novelli vd. 2012). WHO’nun sınıflandırma standartına göre ABM’ler oldukça toksik kimyasallar grubuna dahildir ve nörolojik ve gelişimsel toksisiteye sahiptir (Ma vd. 2014). ABM, uzun bir süre balıklardaki parazitik hastalıkların önlenmesi için yaygın olarak kullanılmıştır (Johnson ve Margolis 1993). Bu nedenle ABM, akuatik ortamlara girebilir ve sucul canlılar ve ekosisteme çevresel risk oluşturabilir. Toksikolojik olarak ABM toprak solucanlarına ve kuşlara az toksiktir (Halley vd. 1993) fakat balıklara oldukça toksiktir (Jencic vd. 2006). Bu da akuatik organizmalar için potansiyel bir tehdit oluşturduğunu göstermektedir (Ma vd. 2014).

Emamectin benzoat (4’-deoxy-4’-epimethylamino-4’-deoxy-vermectin B1 benzoate, Şekil 1.3) (EB), yeni bir makrosiklik lakton insektisit olup toprak mikroorganizması *S. avermitilis*’in fermentasyonu ile izole edilen avermectin

moleküllerinden türetilmiştir (Ioriatti vd. 2009). EB, avermectin B1'in kimyasal modifikasyonu olup B_{1a} ve B_{1b}'den oluşan bir karışımdır (B_{1a}:B_{1b} ≥ 9:1).



Şekil 1.3. Emamectin benzoatın kimyasal yapısı

EB, sebzeler ve pamuktaki zararlılarının kontrolü için kullanılmaktadır (White vd. 1997). Uygulama sonucunda zararlıların 1-4 saat sonra beslenmesi durmakta, 12-24 saat arasında hareketsiz kalmakta ve 2-4 gün içerisinde de ölmektedirler (Abdel-Hafez ve Osman 2013). EB, sebzeler için geniş spektrumlu bir insektisit olarak yeni geliştirilen bir kimyasaldır ve çok düşük uygulama düzeyleri vardır. Etki mekanizması, gama reseptörlerinin stimülasyonuna katılması ve sonuçta da membranların klor iyon geçirgenliğini arttırmasıdır (Yen ve Lin 2004).

EB, nörotransmitterleri bozarak geri dönüşsüz paralyze neden olmakta ve böcekleri öldürmektedir. Hedef zararları çoktur, temasa göre yenildiğinde daha çok etkili bir insektisittir (Anderson vd. 2009). Bu pestisit, WHO tarafından toksik kategorisi 2 olarak sınıflandırılmıştır (Wang vd. 2012). EB çeşitli meyve ve sebzeler üzerine bir insektisit olarak geniş spektrumlu etkinliğinin bir sonucu olarak yaygın bir şekilde uygulanmasına bağlı olarak (Xie vd. 2011) sucul ekosistemlerdeki düzeyleri artmakta ve buradaki canlılara ciddi toksik etkilere neden olmaktadır. EB'nin kalıntıları balık (Inoue vd. 2010) ve ıstakoz dokularında (Tauber vd. 2006) rapor edilmiştir.

Pestisitler hücrelerin çeşitli metabolik yollarına müdahale ederler ve bunlara karşı da pestisit derişimlerine ve çeşitlerine bağı olarak çeşitli hücreşel yanıtlar oluşmaktadır. Pestisit etkileşimi, hücrelerdeki metabolik aktiviteleri sonucunda reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimine bağı olarak akuatik organizmalarda oksidatif strese neden olmaktadır (Trídico vd. 2010). Serbest radikaller pestisit toksisitesinde önemli bir rol oynamaktadır. Pestisitler antioksidanlar yada serbest oksijen radikal temizleyici enzim sistemlerinde değışikliğe neden olarak oksidatif stresi indükleyebilirler (El-Sharkawy vd. 1994, Almeida vd. 1997).

Akuatik ortamlar çok sayıda kimyasal kirleticilerin girdiğı alanlardır ve bu kirleticiler, balıklarda ROT üretimi ile sitotoksik etkilerini gösterebilmektedirler (Li vd. 2010). Pestisitler; proteinler, lipidler, enzimler ve DNA'lar gibi önemli biyomoleküllere zarar verecek olan süperoksit anyonu, hidroksil radikali, singlet oksijen ve hidrojen peroksit gibi ROT'ların oluşumunu katalizleyerek oksidatif strese neden olabilmektedirler (Carvalho vd. 2012). Yine pestisitler membran lipidleri ile etkileşime girerek lipid peroksidasyonuna da neden olmaktadır. Pestisitlerin bu zararlı etkilerine karşı hücreler antioksidan savunma sistemlerini geliştirmişlerdir. ROT'lar enzimatik ve non-enzimatik hücreşel savunma sistemleri tarafından detoksifiye edilirler. Antioksidan yanıtlar, ksenobiyotiklerin neden olduğı oksidatif stresin biyobelirteçleri olarak refere edilmektedir (Carvalho vd. 2012).

Hücreşel yapıların büyük bir bölümü ve fonksiyonları oksidatif hasarın potansiyel hedefleri olup özellikle de biyomoleküllerin oksidasyonu ve hücre membranlarının lipid peroksidasyonu ROT'ların yaygın etkileridir (Meng vd. 2014). Bu durum (oksidatif stres) sinir sisteminin bozulmasına, hemolize, hücreşel metabolizmada bozulmalara ve sonuçta da hücre ölümüne neden olabilmektedir (Zhang vd. 2004). Normal fizyolojik durumlarda ROT üretimi antioksidan savunma sistemleri tarafından engellenebilmektedir. Bununla birlikte şiddetli bir oksidatif stres durumunda antioksidan savunma sistemleri baskılanacağından oksidatif hasar oluşmaktadır. (Livingstone 2001). Oksidatif stres balıklarda fizyolojik prosesleri bozar ve hücre ölümüne neden olur (Banaee 2013). Artan ROT üretimi protein oksidasyonuna, DNA hasarına, dokularda lipid peroksidasyonunun başlamasına, gen ekspresyonunda ve hücreşel redoks durumunda değışikliklere neden olabilmektedir (Vinodhini ve Narayanan 2009). Bu nedenle oksidatif stresin neden olduğı değışiklikleri ölçmek

çevresel kirliliğin etkilerinin biyobelirteçleri olarak kullanılmakta ve daha yüksek biyolojik organizasyonlarda kirleticilerin neden olacağı etkilerin önceden belirlenmesine olanak sağlamaktadır (Leomanni vd. 2015).

Sağlıklı organizmalarda ROT'un oluşumu ve uzaklaştırılması arasında bir denge vardır. ROT üretimi uzaklaştırılmasından daha fazla olduğunda biyooksidatif stres durumu ortaya çıkabilmektedir. Bu oksidatif stresle baş etmek için hücreler süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon-S-transferaz (GST) gibi enzimatik olan ya da glutatyon (GSH) gibi enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemlerine sahiplerdir (Almeida vd. 2007). Antioksidanlar, moleküler oksijenleri tüketerek ya da lokal konsantrasyonlarını azaltarak, prooksidatif ajanları uzaklaştırarak, süperoksit anyon radikali ya da hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerini tutarak, lipid peroksidasyonunu başlatıcı özelliği olan hidroksil radikalini temizleyerek etki göstermektedirler (Martysiak-Żurowska ve Wenta 2012).

SOD, CAT ve GR gibi enzimatik antioksidanlar biyolojik sistemleri serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktadırlar (Kehrer 1993). SOD ve CAT, ROT ve diğer serbest radikallere karşı hücrelerin ilk savunma hattını oluşturan antioksidanlardır.

CAT çoğu ökaryotik hücrelerde bulunur. Daha çok karaciğer ve eritrositler olmak üzere hücre, doku ve organların birçoğunda bulunmaktadır (Sung vd. 2013). Peroksizomlarda ve sitozolde bulunan ve yapısında hem içeren bir protein olan CAT, hidrojen peroksiti (H_2O_2) moleküler oksijen ve suya dönüşümünü katalizleyerek reaktif oksijen türlerinin etkisini azaltmakta önemli bir rol oynamaktadır (Van der Oost vd. 2003). Katalizlediği reaksiyon $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$ şeklindedir.

Aerobik tüm hücreler SOD içerirler. Memeli dokularında Cu-Zn içeren süperoksit dismutaz sitozolde, Mn içeren süperoksit dismutazlar mitokondrial matrikste bulunmaktadır (Sung vd. 2013). SOD, süperoksit radikal anyonunu H_2O_2 'ye dönüşümünü katalizleyerek oksidatif strese karşı rol oynayan antioksidan enzim savunma sistemlerinin önemli bir elemanıdır (Pisochi ve Pop 2015). Katalizlediği reaksiyon $O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ şeklindedir. Önceki çalışmalar pestisit etkileşiminin balıkların dokularında CAT ve SOD enzim aktivitelerinde değişikliklere neden olduğunu göstermiştir (Peixoto vd. 2006, Modesto ve Martinez 2010).

GR, NADPH varlığında okside glutatyondan (GSSG) redükte glutatyonun (GSH) oluşumunu katalizlemektedir. GSH/GSSG oranı hücrelerin redoks durumunun çok önemli bir belirteçidir (Rana vd. 2002). GR, oksidatif stres altında GSH/GSSG'nin oranının korunmasında oldukça önemlidir (Richardson vd. 2008). Katalizlediği reaksiyon $GSSG + NADPH + H^+ \rightarrow 2GSH + NADP^+$ şeklindedir.

GSH (L - γ -glutamil-sistenil-glisin), sistein bakımından zengin bir tripeptit olup metabolik olarak üretilen oksitleyici ajanların ve elektrofilik metabolitlerin detoksifikasyonunda önemli roller oynamaktadır (Verma vd. 2007). GSH, antioksidan ve hücre koruyucu olarak hidrojen peroksit, hidroksil anyonu, klorlu oksidantları temizleyici etkisi bulunmaktadır (Sung vd. 2013). GSH hücre içi redoks dengesinin korunmasında ve oksidatif strese yanıtta önemli bir rol oynayan enzimatik olmayan bir antioksidan olarak ifade edilmektedir (Pena-Llopis vd. 2001). Birçok dokuda 5-10 mM düzeyinde olduğu belirtilmektedir (Pisochi ve Pop 2015). GSH yine GPx ve GST gibi önemli antioksidan enzimlerin de substratıdır (Verma vd. 2007).

Pestisitlerin neden olduğu toksik etkilerden biri de lipid peroksidasyonudur. Lipid peroksidasyonu, oksijen radikallerinin lipid hidroperoksitleri ile reaksiyonu sonucunda doymamış lipid materyallerindeki kompleks bir prosestir (Richardson vd. 2008). Malondialdehit (MDA), doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucunda oluşan önemli bir oksidasyon ürünüdür. MDA düzeylerindeki artışlar lipid peroksidasyonunun önemli bir belirteçidir (Freeman ve Crapo 1981). Lipid peroksidasyonu, kirleticilerin etkilerinin değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılan önemli bir biyobelirteçtir (Lackner 1998). Oksidatif stres, lipid peroksidasyonuna neden olmakta ve bu da membran bütünlüğünü bozarak balıklarda çeşitli patolojik durumların ortaya çıkmasına ve çeşitli hastalıklarının oluşmasına neden olmaktadır (Livingstone 2001).

Son yıllarda tarımsal pestisitlerin yaygın kullanımı çevresel kirliliğe neden olmaktadır. Çok çeşitli pestisit türlerinin tarımsal zararlılara karşı aşırı kullanımı, kullanıldığı bölgelerden su ortamına olan kontaminasyonunu arttırmaktadır (Sinhorn vd. 2014). Bunun sonucunda meydana gelen pestisit kirliliği, insanların önemli besinini oluşturan ve ekonomik önemi olan balıkları da içeren hedef olmayan organizmalarda geniş çaplı hasara neden olarak ekolojik dengeyi bozmaktadır (Oruç vd. 2004). Balıklar besin zincirinin önemli ögeleri olduğundan balıklar üzerine pestisitlerin etkilerini

araştırmak insan sağlığı üzerine bu kimyasalların olumsuz etkilerini değerlendirmede de önemli bilgiler verebilmektedir (Begum ve Vijayaraghavan 1996). Yapılan detaylı literatür taramalarında, pestisitlerin balıklar üzerine olan etkileriyle ilgili çalışmaların birden çok pestisite oranla daha çok tek bir pestisitın etkisi üzerine yoğunlaştığı gözlenmiştir. Yine çalışmamızdaki insektisitlerin karşılaştırılmalı etkileriyle ilgili bir literatüre de rastlanmamıştır. Bu nedenle sunulan bu araştırmada *O. niloticus*'ta hedef doku olarak seçilen karaciğer dokusundaki antioksidan parametreler (CAT, SOD, GSH, ve GR) ve lipid peroksidasyonu üzerine chlorpyrifos, abamectin ve emamectin benzoat türü insektisitlerin etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Peixoto vd. (2006), antioksidan enzimler üzerine pestisitlerin etkisini araştırdıkları çalışmalarında 7, 14 ve 21 günlük sürelerle 0,3 ve 0,6 mg/L oxyfluorfen etkisine bırakılan *O. niloticus*'ta CAT, SOD ve GR aktivitesinde artışlar saptamışlardır.

Verma vd. (2007), yaptıkları bir çalışmada chlorpyrifos etkisine bırakılan sıçanlarda karaciğer, böbrek, dalak ve beyin dokularında SOD ve CAT enzim aktivitelerinde azalışlar, MDA düzeyinde ise artışlar olduğunu belirlemişlerdir. Aynı zamanda subletal chlorpyrifos uygulaması test edilen tüm sıçan dokularında GSH düzeylerinde azalışlarına neden olmuştur.

Kavitha ve Venkateswara Rao (2008), 297 µg/L chlorpyrifos etkisine 96 saat süre ile bırakılan *Gambusia affinis* türü balıklarda SOD, CAT ve GR enzim aktivitesinde azalışlar lipid peroksidasyonunda ise artışlar gözlemlenmiştir.

Richardson vd. (2008), organoklorlu pestisitlerin etkisindeki *Perna viridis* türü midyelerde antioksidan yanıtları inceledikleri çalışmalarında karaciğer dokusundaki GSH düzeyi ve CAT, SOD, GPx, GR ve GST aktivitelerinde önemli değişimler belirlenmiştir. Özellikle de CAT ve GST enzimlerinin aktiviteleri anlamlı olacak şekilde artmıştır.

Sharbidre vd. (2011), metil parathion ve chlorpyrifosun *Poecilia reticulata* dokularındaki bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında pestisitlerin etkisinde dokularda MDA düzeylerinde artışlar belirlenirken CAT, GST, GR ve SOD enzim aktiviteleri ile GSH düzeylerinde pestisitlere ve dokulara özgü değişimler belirlenmiştir.

Tripathi ve Shasmal (2011), 2.0, 4.0 ve 6.0 ppm chlorpyrifos etkisine bırakılan *Heteropneustes fossilis* türü balığın çeşitli dokularındaki CAT enzim aktivitesi ile birlikte diğer biyokimyasal parametrelerdeki (DNA, RNA ve protein) değişimlerini inceledikleri çalışmalarında chlorpyrifosun beyin, karaciğer, solungaç ve kas dokularında CAT enzim aktivitesini önemli olacak şekilde azalttığı belirlenmiştir.

Yonar ve Sakin (2011), deltametrin etkisindeki *Cyprinus carpio*'nun antioksidan savunma mekanizmaları üzerine likopenin iyileştirici etkisinin araştırıldığı çalışmada deltametrinin etkisinde dokulardaki MDA düzeylerinde artışlar, SOD, CAT ve GPx enzim aktivitelerinde ve GSH düzeylerinde ise azalışlar belirlenmiştir.

Carvalho vd. (2012), yaptıkları bir alan çalışmalarında Monjolinho Nehri'nin (Brezilya) kirli bölgelerinden alınan *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki SOD ve GPx aktivitesinin azaldığı, solungaç SOD aktivitesinin ve lipid peroksidasyon düzeyinin arttığını belirlemişlerdir.

Ji vd. (2012), DDT (dikloro difenil trikloroethan) ve polisiklik aromatik hidrokarbonlarının etkisine bırakılan *Carassius auratus*'ta biyokimyasal yanıtlar araştırılmıştır. Hepatik GSH düzeyleri azalırken lipid peroksidasyonunun arttığı belirlenmiştir.

Kaya vd. (2012), 96 saat süre ile 6.5 ppb lufenuron insektisidinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un beyin dokusunda GSH ve MDA düzeyleri önemli olacak şekilde artmıştır. Araştırmacılar lufenuronun oksidatif stresi indüklediğini ve lipid peroksidasyonuna neden olduğunu belirtmişlerdir.

Stara vd. (2012), 0.06, 2.0 ve 4.0 mg/L simazinin 14, 28 ve 60 günlük sürelerinin etkisinde *C. carpio*'da oksidatif stres ve antioksidan yanıtlar araştırdıkları çalışmalarda uzun süreli simazin etkileşiminde balıkların beyin, solungaç, karaciğer, kas ve bağırsak gibi dokularında ROS'lara bağlı olarak oksidatif stresin olduğu, lipid peroksidasyonunun arttığı, antioksidan kapasitede (SOD, CAT, GSH, GPx) azalışlar olduğu belirlenmiştir.

Uçar vd. (2012), 3.85 mg/L karboksine 7 gün süre ile bırakılan *O. mykiss*'in karaciğer dokularında SOD enzim aktivitelerinin önemli oranda arttığı ve karboksinin balıklarda oksidatif strese neden olduğu belirlenmiştir.

Ural (2013), *C. carpio*'da hematolojik parametreler ve oksidan/antioksidan durum üzerine chlorpyrifosun etkisini araştırdığı çalışmada chlorpyrifosun hematolojik parametreler ve SOD, CAT ve GPx gibi antioksidan enzim aktiviteleri üzerine olumsuz bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Stara vd. (2013), 0.51, 8 ve 80 µg/L prometrynenin etkisine 14, 30 ve 60 günlük sürelerde bırakılan *C. carpio*'nun beyin, solungaç, bağırsak, karaciğer ve kas dokularındaki oksidatif stres ve antioksidan durum üzerine pestisitinin etkisini inceledikleri çalışmalarında etkileşim süresi, ortam derişimi ve dokulara özgü olarak önemli değişimler belirlemişlerdir. Çalışmada MDA düzeyi ile GR, SOD ve CAT aktivitelerinde azalış ve artışlar belirlenmiştir.

Bacchetta vd. (2014), endosülfan ve lambda-cyhalothrinin tek başına ve birlikte etkisine 96 saat süre ile bırakılan *Piaractus mesopotamicus*'un solungaç, karaciğer, böbrek, beyin ve kas dokularındaki antioksidan enzimleri de içeren biyokimyasal parametrelerdeki değişimleri incelediği çalışmalarında pestisitlerin birlikte etkisinde dokulardaki antioksidan enzim aktivitelerinin azaldığı, lipid peroksidasyonun ise arttığını belirlemişlerdir.

İbrahim ve Harabawy (2014), 35 gün süre ile 0.16 ile 0.49 mg/L carbofuran etkisine bırakılan *Clarios gariepinus*'ta hormonal, enzimatik ve antioksidan yanıtlar çalışmışlardır. Carbofuranın etkisinde balıkların dokularındaki SOD, CAT ve GST aktiviteleri ile GSH düzeylerinde önemli azalışlar belirlenmiş ve lipid peroksidasyonunun arttığı gözlemlenmiştir.

Kennedy vd. (2014), ivermectin ve emamectin benzoatın tek başına veya birlikte etkisinde gökkuşağı alabalığında yüzme yeteneğinde ve yüzme performansında azalışlar, biyokimyasal parametrelerde önemli değişimler gözlemlenmiştir.

Ma vd. (2014), 3.4, 9.6, 19.2 ve 27.4 µg/L abamectin etkisine 96 saat süre ile bırakılan *Physa acuta* türü salyangozda SOD ve GST enzim aktivitelerinin 12 ve 48 saatlik süreler sonunda arttığı, 96 saatlik süre sonunda ise azaldığı, CAT aktivitesi ve MDA düzeylerinin ise denenen süreler sonunda arttığı belirlenmiştir.

Meng vd. (2014), karbamat insektisit olan methomylin 0.2, 2.0, 20 ve 200 mg/L subletal konsantrasyonlarının etkisine 30 gün süre ile bırakılan *O. niloticus*'un karaciğerindeki antioksidan sistemleri incelemiştir. Araştırmada en düşük konsantrasyon hariç methomylin diğer konsantrasyonlarında etkileşim süresi sonunda GST, GR ve GPx enzim aktiviteleri artmış, GSH aktiviteleri ise düşmüştür.

Abdel-Daim vd. (2015), 1.46 µg/L deltametrin etkisine 28 gün süre ile bırakılan *Oreochromis niloticus*'un karaciğer, böbrek ve solungaç dokularındaki GSH, GPx, SOD ve CAT enzim aktivitelerinde azalışlar, MDA düzeyinde ise artışlar saptamışlardır.

Liu vd. (2015), 0.02, 0.1 ve 0.5 mg/L organofosfat pestisit olan triazophosun etkisine 4 ve 7 günlük sürelerde bırakılan *C. auratus*'un beyin, dalak, böbrek ve karaciğer dokularında antioksidan sistemleri çalışmışlardır. Pestisit etkisinde dokulara özgü antioksidan yanıtlar gözlenmiştir. Yüksek pestisit derişiminin etkisinde genel olarak MDA düzeylerinde artış, SOD ve CAT enzim aktiviteleri ile GSH düzeylerinde azalışlar belirlenmiştir.

Topal vd. (2015), 21 gün süre ile 2.5, 5.0 ve 10.0 mg/L glyphosate etkisine bırakılan *O. mykiss*'te süreye ve derişime bağı olarak antioksidan aktivitelerinde önemli yanıtlar belirlemişlerdir. Genel olarak SOD ve CAT enzim aktivitesinin arttığı belirlenmiştir.

Yan vd. (2015), 0.6, 1.2, 2.5 ve 5 mg/L neonicotinoid pestisit olan niterpyramın etkisine 7, 14, 21 ve 28 günlük sürelerle bırakılan *Danio rerio*'nun karaciğerindeki antioksidan enzim sistemlerindeki değişimleri araştırdıkları çalışmalarında genel olarak SOD ve CAT aktivitesinde azalışlar, reaktif oksijen türlerinin üretiminde ve MDA düzeylerinde ise artışlar belirlemişlerdir.

Xing vd. (2015), 40 gün süre chlorpyrifos, atrazin ve chlorpyrifos+atrazinin birlikte etkisinde *C. carpio*'nun böbrek dokusunda pestisit birikiminin olduğu ve bu birikime bağı olarak biyokimyasal parametrelerde önemli değişikliklerin olduğunu rapor etmişlerdir.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Sunulan araştırma için gerekli Etik Kurul onayı Çukurova Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Karar No:8, Tarih: 26.08.2014, EK-1). Çalışmamızda araştırma materyali olarak *Oreochromis niloticus* kullanılmıştır. Balıklar Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi balık yetiştirme havuzlarından alınmıştır. Balıklar laboratuvara getirilmiş ve içerisinde 120 L bekletilmiş çeşme suyu bulunan 40x140x40 cm ebatlarındaki 14 stok cam akvaryumda üç ay süre ile ortam koşullarına adaptasyonları sağlanmıştır. Bu süre içerisinde deneyde kullanılacak balıklar 11.49 ± 0.7 cm boy ve 30.11 ± 0.6 g ağırlığa ulaşmıştır.

Deneyler 25 ± 1 °C'de yürütülmüş, günde sekiz saat aydınlanma periyodu uygulanmış ve merkezi havalandırma sistemi kullanılarak akvaryumlar havalandırılmıştır. Laboratuvar koşullarına adaptasyonları boyunca balıklar, hazır balık yemi kullanılarak (Pınar Balık Yemi, Türkiye) beslenmiştir. Denemeler başlamadan 48 saat öncesinde yem kesilmiş, denemeler süresince balıklar vücut ağırlıklarının %2'si kadar yem ile günde iki defa beslenmiştir. Deney ortam suyunun kimyasal özellikleri; toplam sertlik 323 ± 3 ppm CaCO_3 , çözünmüş oksijen 7.32 ± 0.02 , pH 8.02 ± 0.04 , akvaryum ısı 21.42 ± 0.17 °C olarak ölçülmüştür.

Araştırmamızda chlorpyrifosun [O,O-diethyl-O-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl) phosphorothionate] ticari formu Korban 4 (Koruma A.Ş., 480 g/L); abamectinin [% 80 Avermectin B_{1a} (5-0 demethyl Avermectin A_{1a}) ve % 20 Avermectin B_{1b} (5-0-dimethyl-25-de-(1-methylpropyl)-25-(1-methylethyl) Avermectin A_{1a}] ticari formu Agrimec® 18 EC (Syngenta, 18 g/L) ve emamectin benzoatın [4'-deoxy-4'-epimethylamino-4'-deoxya-vermectin B1 benzoate] ticari formu Proclaim Opti UV 5 WG (Syngenta, 50g/kg) kullanılmıştır.

3.1.1. Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler

Bakır (II) Sülfat pentahidrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Sigma)
1,1,3,3, Tetrametoksipropan (Sigma)
Meta-Fosforik Asit (Sigma)
Sodyum Klorür (NaCl , Merck)
Sodyum Fosfat (Na_2HPO_4 , Merck)
Sodyum Karbonat (Na_2CO_3 , Merck)
5,5'-Dithiobis 2-nitrobenzoikasit (DTNB, Sigma)
Etilendiamintetraasetikasit (EDTA, Sigma)
Nitrobluetetrazolium (NBT, Sigma)
Hidro Klorik Asit (HCl , Merck)
Hidrojen Peroksit (H_2O_2 , Merck)
Dipotasyumhidrojenfosfat ($\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Merck)
Sodyum Hidroksit (NaOH , Merck)
Ksantin Oksidaz (XOD, Sigma)
Amonyum Sülfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Merck)
Thio Barbutirik Asit (TBA, Merck)
Triklor Asetik Asit (TCA, Merck)
Sukroz ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$, Sigma)
Sığır Serum Albümini (Merck)
Bakır Klorür ($\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Merck)
Folin Ciocalteu Fenol Ayıracı (Merck)
Nikotin Amid Adenindinükleotit Fosfat (NADPH, Sigma)
Oksideglutasyon (GSSG, Sigma)
Monosodyum Fosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Sigma)

3.1.2. Deneylerde kullanılan cihazlar

Spektrofotometre : SHIMADZU UV-1800
Homojenizatör : WİSETİS HG-15D
Santrifüj : Nüve NF400

Soğutmalı Santrifüj : Hettich Universal 320R
Derin Dondurucu (-80°C) : New Brunswick Scientific U410 Premium
Hassas Terazi : OHAUS Pioneer PA214C
Su Banyosu : Jeio Tech BS-11
pH metre : Thermo Scientific Orion 2 Star
Manyetik Karıştırıcı : VELP Scientifica ARE
Distile Su Cihazı : Millipore Rios 8
Vortex : Labort Multi-Mixer MVS-1

3.2. Yöntem

Deneyler chlorpyrifos, abamectin ve emamectin benzoat türü pestisitlerin antioksidan sistemler ve lipid peroksidasyonu üzerine etkilerini belirlemek amacıyla üç seri olarak yürütülmüş ve her bir pestisit 5.0 ve 10.0 ppb'lik konsantrasyonları kullanılmıştır. Birinci seride balıklar chlorpyrifos, ikinci seride abamectin ve üçüncü seride ise emamectin benzoat etkisine 48 ve 96 saatlik sürelerle bırakılmıştır.

Deneylerde herbirinin içerisinde 12 adet balık bulunan toplamda 7 cam akvaryum kullanılmıştır. Deneylerde birinci seride yedi akvaryumun ilk ikisine chlorpyrifosun 5.0 ve 10.0 ppb'lik çözeltileri; ikinci seride üçüncü ve dördüncü akvaryumlara abamectinin 5.0 ve 10.0 ppb'lik çözeltileri; üçüncü seride beşinci ve altıncı akvaryumlara emamectin benzoatın 5.0 ve 10.0 ppb'lik çözeltilerinden 120'şer litre ve son akvaryum ise kontrol grubu olarak kullanılarak içerisine aynı hacimde (120 L) dinlendirilmiş çeşme suyu konmuştur. Deney akvaryumlarında kullanılan pestisit çözeltilerinin derişimlerinde zamana bağlı olarak değişim olabileceği dikkate alınarak çözeltiler her gün yeni hazırlanan stok çözeltilerden uygun seyreltmeler yapılarak değiştirilmiştir. Deneyler altı tekrarlı olarak yürütülerek her tekrarda bir balık kullanılmıştır.

3.2.1. Doku örneklerinin alınması ve biyokimyasal analizler

Belirlenen her sürenin sonunda deney akvaryumlarından rastgele seçilen balıklar, çeşme suyuyla yıkanarak temizlenmiş, yüzeylerinde bulunan su damlacıkları

kurutma kağıdıyla alınmış ve boy ve ağırlıkları saptanarak diseksiyona hazır hale getirilmiştir. Balıklar diseksiyondan önce spinal yapılarak öldürülmüştür. Steril aletlerle karaciğer doku örnekleri buz üzerinde disekte edilmiş, bu örnekler % 0.59 NaCl ile yıkanmış ve ağırlıkları alındıktan sonra biyokimyasal analize kadar -80 °C’de muhafaza edilmişlerdir.

3.2.1.1. Doku homojenatlarının hazırlanması

Karaciğer dokuları 1/10 ağırlık/hacim (w/v) olacak şekilde 0.25 M süktroz içeren 0.05 M soğutulmuş Na-P tamponu (pH: 7.4) ile buz içerisinde ultra-turrax homojenizatörde 3 dakika süreyle 10.000 rpm’de homojenize edilmiştir. Homojenatlar +4 °C’de 10000 rpm’de 30 dakika süreyle santrifüje edilmiş ve elde edilen süpernatantlarda CAT, SOD ve GR aktiviteleriyle GSH, MDA ve protein düzeyleri spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir.

3.2.1.2. CAT aktivite tayini

Prensip: Katalaz aktivite tayini, H₂O₂’nin 240 nm dalga boyundaki absorbansının enzim ile etkileşiminden sonra zamana bağlı olarak azalması dikkate alınarak yapılmıştır (Lartillot vd. 1988).

Ayırıcılar:

- a. 50 mM Fosfat Tamponu (pH 6.8): 2.482 g K₂HPO₄ ve 4.864 g KH₂PO₄ alınır ve pH ayarlandıktan sonra saf su ile 1000 mL’ye tamamlanır.
- b. 10 mM H₂O₂: %30’luk peroksitten 10 µL alınır ve 9990 µL saf suyla tamamlanır.
- c. 1 M HCl: %37’lik HCl’den 43 µL alınır ve fosfat tamponuyla 50 mL’ye tamamlanır

Yöntem

50 mmol/L fosfat tamponu (pH 6.8) içerisinde 10 mmol/L H₂O₂ olacak biçimde substrat çözeltisi hazırlanmıştır. 20 µL örnek üzerine 2.5 ml substrat çözeltisi eklenerek

37 °C sıcaklıkta iki dakika bekletilmiş ve tepkimeyi durdurmak için üzerine 0.5 ml 1 M HCl çözeltisi eklenerek 240 nm dalga boyundaki absorbansı (Ar) ölçülmüştür.

Kör için 2.5 ml 50 mmol/L fosfat tamponu (pH 6.8) ve 0.5 ml 1 M HCl içeren çözelti kullanılmıştır.

H₂O₂'in başlangıç absorbans (As) değerini saptamak için 2.5 ml substrat ve 0.5 ml 1 M HCl içeren çözeltinin absorbansı ölçülmüştür.

Proteinin neden olduğu absorbansı (At) tespit etmek için 20 µL örnek, 2.5 ml fosfat tamponu ve 0.5 ml 1 M HCl içeren çözeltinin absorbansı ölçülmüştür.

Hesaplama:

Enzimatik aktivite kaynaklı absorbans (A) değişimi:

$$A = (As + At) - Ar$$

Enzim aktivitesi hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$\text{CAT aktivitesi (U/mL)} = \frac{AVt}{\epsilon.t.Vö}$$

Vt = Toplam reaksiyon hacmi (mL)

Vö = Örnek hacmi (mL)

ϵ = H₂O₂'nin molar ekstinksiyon katsayısı (0.0396 cm²/µmol)

t = Reaksiyon zamanı (dakika)

$$\text{CAT Spesifik Aktivitesi (U/mg protein)} = \frac{\text{CAT Aktivitesi}}{\text{Protein Miktarı}}$$

3.2.1.3. SOD aktivite tayini

Prensip: Enzim aktivite tayini, ksantin ve ksantin oksidazın reaksiyonuyla oluşan süperoksit anyon radikallerinin, nitrobluetetrazolium ile oluşturduğu mavi renkli formazan boyasının 560 nm'deki absorbansının okunması esasına dayanmaktadır (Sun vd. 1988).

Ayır  lar:

1. Reaktif:

- 0.3 mM Ksantin:** 9.13mg alınıp 200 mL saf suda   z  m  st  r.
- 0.6 mM EDTA** 22.3 mg alınıp 100 ml saf suda   z  m  st  r.
- 150   g/L N.B.T.:** 12.3 mg alınıp 100 mL saf suda   z  m  st  r.
- 400 mM Na₂CO₃:** 2.544 g alınıp 60 mL saf suda   z  m  st  r.
- 1g/L Sı  r serum:** 30 mg alınıp 30 mL saf suda   z  m  st  r.

2. Ksantin Oksidaz (167 U/L): 18   l alınıp 3 ml 2 M (NH₄)₂SO₄ da   z  m  st  r.

3. CuCl₂.2H₂O (0.8 mM): 13.6 mg alınıp 100 ml'ye saf su ile tamamlanmı  tır.

Y  ntem: Enzim aktivite tayini i  in iki t  p alınmı   ve   izelge 3.1'te belirtilen ayır  lar konmu  tur.

  izelge 3.1. S  peroksid Dismutaz Y  ntemi

���zeltiller	K��r	Numune
Reaktif	2,85 ml	2,85 ml
Numune	-	0,1 ml
Ksantin oksidaz	50 ��L	50 ��L
25��C'de oda sıcaklığında 20 dakika bekletilip		
CuCl ₂	0,1 ml	0,1 ml
Numune	0,1 ml	-

560 nm dalga boyunda absorbands de  erleri distile suya kar  şı okunmu  tur.

Hesaplama:

$$\text{SOD Aktivitesi (U/mL)} = \frac{\text{K  rOD} - \text{NumOD}}{\text{K  rOD}} \times 20$$

20: zaman (dakika)

$$\text{SOD Spesifik Aktivitesi (U/mg protein)} = \frac{\text{SOD Aktivitesi}}{\text{Protein Miktarı}}$$

3.2.1.4. GR aktivite tayini

Prensip: GR, NADPH varlığında okside glutatyonun redükte glutatyona indirgenmesini katalizlemekte olup enzim aktivitesi NADPH'IN NADP⁺'a yükseltgenmesi esnasındaki absorbands değişiminin 340 nm'de okunması esasına dayanmaktadır (Carlberg ve Mannervik 1975).

Ayırıklar:

1-100 mM Na-P Tamponu: (pH=8.0)

Na₂HPO₄·7H₂O 5.7554 g

NaH₂PO₄·2H₂O 0.5328 g

Saf su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır.

2-Günlük Tampon

0.12 mM NADPH ve 1mM GSSG'nin tampon içinde çözülmesiyle hazırlanmıştır.

0.0165 g GSSG + 0.002 g NADPH 27 mL 100 mM Na-P içinde çözülmüştür.

Yöntem: GR aktivite tayini için iki küvet alınır ve çizelge 3.2'te belirtilen ayırıklar konur.

Çizelge 3.2. Glutatyon Redüktaz Yöntemi

Çözeltiler	Kör (µL)	Örnek (µL)
Distile su	100	-
Günlük tampon	900	900
Örnek	-	100

Çalkalanır ve 37 °C'de 340 nm'de 0. ve 5. dk. köre karşı absorbands değerleri ölçülür.

Hesaplama:

$$\text{GR Aktivitesi (U/mL)} = \frac{\Delta OD \times V_t}{6.22 \times V_0}$$

ΔOD =Zamana göre absorbands değişimi

V_t = Toplam hacim

V_o = Örnek hacmi

6.22 = 1 nmol NADPH'ın 1 cm'lik ışık yolunda verdiği OD değeri

$$\text{GR Spesifik Aktivitesi (U/mg protein)} = \frac{\text{GR Aktivitesi}}{\text{Protein Miktarı}}$$

3.2.1.5. GSH düzeyi tayini

Prensip: DTNB, sülfidril bileşikler tarafından redükte edilen bir disülfid bileşiği olup sarı renkli bir anyon oluşturmaktadır. Örnek ile DTNB'nin oluşturduğu sarı renkli kompleksin renk şiddeti ortamdaki GSH konsantrasyonu ile doğru orantılıdır; 412 nm'de spektrofotometrik olarak değerlendirilir (Beutler 1975).

Ayırıcılar:

1. Çöktürücü çözelti

Galsiyel metafosforik asit 1.67 g

Disodyum EDTA 0.20 g

NaCl 30.0 g

Distile su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

2. 0.3 M Na_2HPO_4

Na_2HPO_4 42.59 g

Distile su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

3. %0.02 DTNB çözeltisi

DTNB 20 mg

%1'lik sodyum sitrat ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

Yöntem: 200 μL homojenat üzerine 2 mL saf su ilave edilir. GSH tayini için iki tüp alınır ve çizelge 3.3'te belirtilen ayırıcılar konur.

Çizelge 3.3. Redükte Glutasyon Yöntemi

Çözeltiler	Kör (mL)	Örnek (mL)
Homojenat	-	2
Distile su	2	-
Çöktürücü	3	3

5 dakika bekletilmiş, örnek filtre kağıdından süzölmüş;

Süzüntü	2	2
0.3 M Na ₂ HPO ₄	8	8

412 nm’de köre karşı okunmuş (OD₁), tüplere;

%0.02 DTNB	1	1
------------	---	---

İlave edilip 412 nm’de köre karşı okunmuştur (OD₂).

Hesaplama:

GSH miktarı µmol/g protein olarak hesaplanır.

$$\frac{C}{1000} = \frac{(OD_2 - OD_1)}{13600} \times \frac{11}{2} \times \frac{5}{2} \times \frac{100}{Pro}$$

$$C (\mu\text{mol/g Pro}) = \frac{(OD_2 - OD_1) \times 101}{Pro(g / dL)}$$

13600: GSH ve DTNB etkileşimi sırasında oluşan sarı rengin molar ekstinksiyon katsatıyısı.

Pro: Protein (g/dL)

1000: µmol’e dönüşüm katsatıyısı

C: µmol glutasyon

OD₁: DTNB ilave edilmeden önceki 412 nm’de ölçölen optik dansite

OD₂: DTNB ilave edildikten sonraki 412 nm’de ölçölen optik dansite

11/2 ve 5/2: Sulandırma katsatıyısı.

3.2.1.6. MDA düzeyi tayini

Prensip: Malondialdehid 90 °C sıcaklıkta tiobarbutirik asit ile pembe renkli bir kompleks oluşturmakta ve bu kompleks spektrofotometrede 535 nm’de ölçülmektedir (Dubovskiy vd. 2008).

Ayıraçlar:

TBA (%0.8): 0.8 g TBA tartılır ve 100 ml distile suda çözülür.

TCA (%20): 20 g TCA 100 ml distile suda eritilir.

Stok Standart: 1,1,3,3 Tetrametoksipropan.

Yöntem:

MDA aktivitesi tayini için süpernatanttan alınan 250µl örnek, 125 µl %20 TCA ile karıştırılır. Bu karışım 15000 g de, 10 dakika süreyle +4 °C’de santrifüj edilir. Tüpteki süpernatant (300 µl), 200 µl TBA ile karıştırılır ve 60 dakika süreyle sıcak su banyosunda (90 °C) bekletilir. Bu işlem sonunda 535 nm de spektrofotometrede okuma yapılır.

Hesaplama:

Sonuçlar standart eğride değerlendirilir. Standart olarak 1,1,3,3 Tetrametoksipropan kullanılacaktır. Stok standarttan 6.6 µl alınır ve distile suyla 100 ml’ye tamamlanır. Bu çözeltiden 10, 20, 40, 60, 80 ve 100 nmol/mL’lik çalışma standartları hazırlanır ve örneklerle yapılan işlemin aynısı yapılarak standart eğri çizimi gerçekleştirilir. Bu eğriden yararlanılarak MDA miktarı hesaplanır. MDA miktarı belirlenip, protein miktarına bölünüp, sonuçlar nmol MDA/mg protein cinsinden bulunur.

3.2.1.7. Protein düzeyi tayini

Prensip: Proteinler alkali ortamda bakır sülfat eklenmesiyle fosfotungustik-fosfomolibdik asidi redükleyerek mavi renk oluştururlar. Bu renkli bileşiğin absorbens değeri 750 nm’de ölçülerek protein miktarları tespit edilir (Lowry vd. 1951).

Ayır  lar:

1. Alkali Na_2CO_3   zeltisi
2. Bakır S  fat-Sodyum Potasyum Tartarat   zeltisi
%1 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
%2 Na-K tartarat
3. Alkali   zelti (G  nl  k olarak hazırlanmakta): 50 mL alkali Na_2CO_3   zeltisi 1 mL Bakır S  fat-Sodyum Potasyum Tartarat   zeltisiyle karıştırılarak hazırlanmıştır.
4. Folin-Ciocalteu Ayıracı: 1 mL Folin-Ciocalteu, 1.5 mL distile su ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

Y  ntem : Protein tayini i  in iki t  p alınır ve   izelge 3.4'te belirtilen ayır  lar konur.

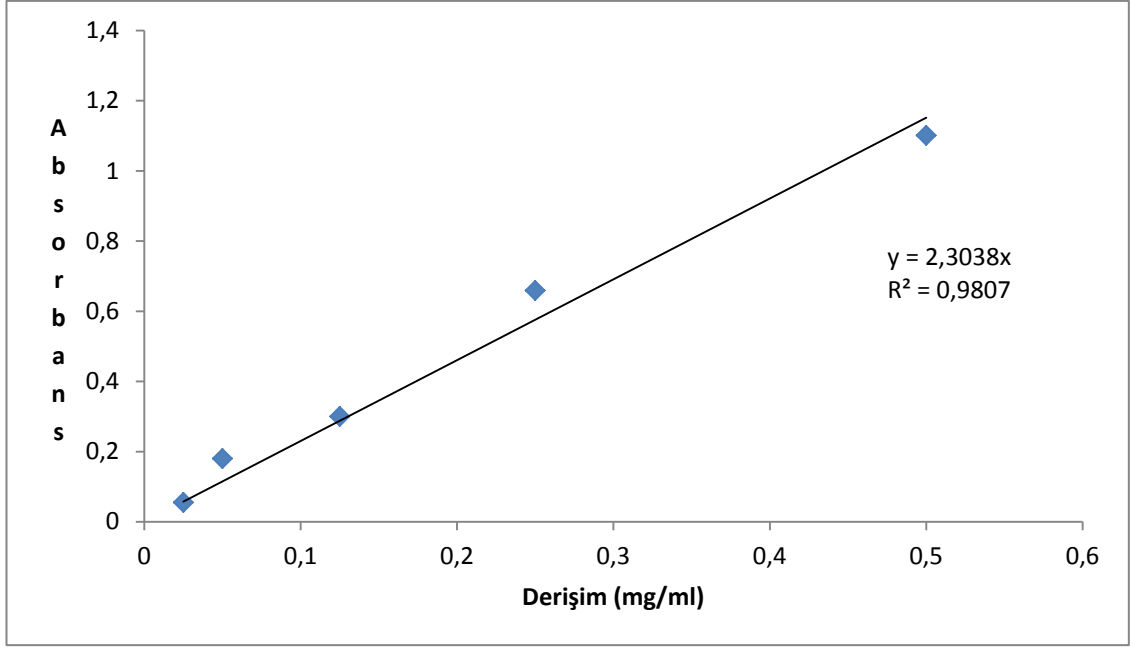
  izelge 3.4. Protein Y  ntemi

Çözeltiler	K��r (mL)	��rnek (mL)
Distile Su	0.3	-
��rnek	-	0.3
Alkali ���zeltisi	3.0	3.0
25 ��C'de 15 dakika bekletilmiş,		
Folin-Ciocalteu	0.3	0.3

  lave edilip oda sıcaklığında 30 dakika bekletilerek 750 nm dalga boyunda absorbans değerleri   l  lm  şt  r.

Hesaplama

Protein d  zeyleri sığır serum albumini kullanılarak hazırlanmış olan standart grafikten yararlanarak hesaplanmıştır (şekil 3.1).



Şekil 3.1. Standart protein grafiğı

3.3. İstatistik

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi IBM SPSS Statistics 21.0 paket programı kullanılarak One Way-ANOVA Student – Newman Keul’s Test (SNK) ve Independent-Sample *t* Test kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR

Sunulan bu çalışmada 48 ve 96 saatlik sürelerle chlorpyrifos, abamectin ve emamectin benzoatın 5.0 ve 10.0 ppb ortam derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'un hedef doku olarak seçilen karaciğer dokusundaki CAT, SOD ve GR aktivitesi ile GSH ve MDA düzeyleri araştırılmıştır. Pestisitlerin denenen tüm derişimlerinde etkileşim süresince balıklarda ölüm gözlenmemiştir.

4.1. Pestisitlerin CAT Aktivitesi Üzerine Etkileri

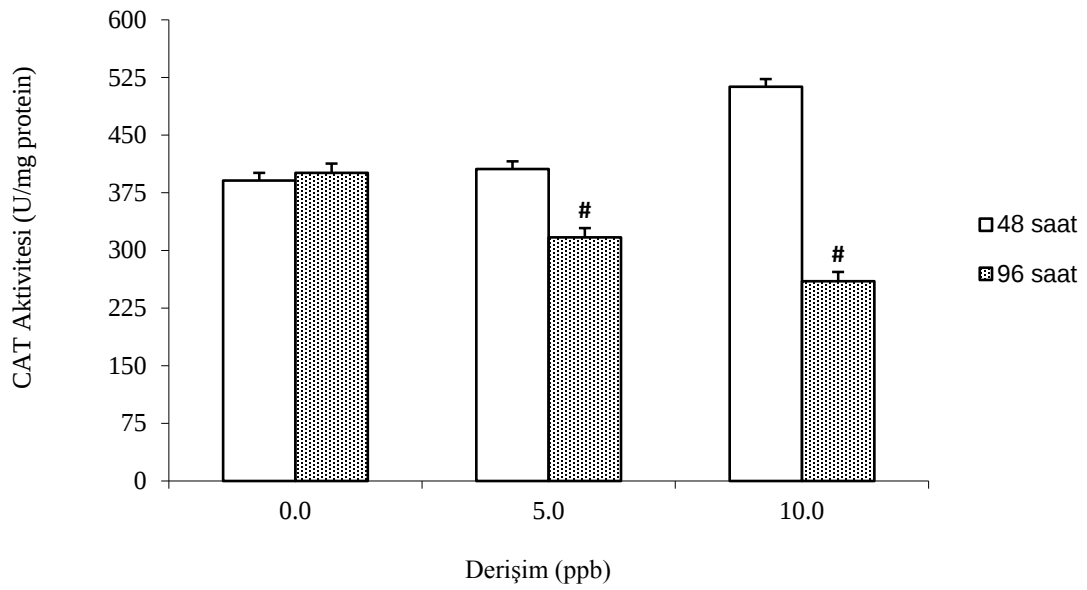
O. niloticus'ta belirli bir sürede karaciğer dokusundaki CAT aktivitesi üzerine chlorpyrifosun derişime bağlı etkileri Çizelge 4.1'de verilmiştir. Etkileşim süreleri dikkate alındığında CAT aktivitesinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 48 saatlik süre sonunda 5.0 ppb CPF etkisinde önemli bir değişim göstermediği ($P>0.05$) bununla birlikte 10.0 ppb CPF etkisinde anlamlı olacak şekilde arttığı belirlenmiştir ($P<0.05$). 96 saatlik süre sonunda ise denenen her iki ortam derişiminin etkisinde CAT aktivitesinde anlamlı bir azalışın olduğu ($P<0.05$) ve bu azalışın düşük ve yüksek CPF derişimleri arasında önemli istatistik ayrım gösterdiği saptanmıştır ($P<0.05$). 96 saatlik süre sonunda 5.0 ve 10.0 ppb CPF etkisinde CAT aktivitesinde sırasıyla, %21 ve %35 düzeyinde bir azalış belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. Chlorpyrifosun farklı ortam derişimlerinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki CAT aktivitesine (U/mg protein) etkileri

Derişim (ppb)	48 Saat	96 Saat
0.0	391 ± 19 a	401 ± 15 a
5.0	406 ± 22 a	317 ± 16 b
10.0	513 ± 18 b	260 ± 23 c

Veriler Aritmetik ortalama ± Standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı etkileşim süresindeki derişimler arasındaki enzim aktivitelerinin ayrımını göstermek için a, b ve c harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

O. niloticus'ta belirli bir ortam derişiminde karaciğer CAT aktivitesi üzerine chlorpyrifosun süreye bağı etkileri Şekil 4.1'de gösterilmiştir. CAT aktivitesi hem düşük hem de yüksek CPF ortam derişimlerinde süreye bağı olarak önemli bir şekilde azalmıştır ($P<0.05$). 48 saatlik süreye oranla 96 saatlik süre sonunda CAT aktivitesinde 5.0 ve 10.0 ppb CPF derişimlerinde sırasıyla, %22 ve %49 düzeyinde bir azalış belirlenmiştir. Bu durum etkileşim süresi artıkça CAT aktivitesinde gözlenen azalışın yüksek CPF etkisinde daha fazla olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.1. Chlorpyrifosun belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusu CAT aktivitesi üzerine etkisi. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P<0.05$).

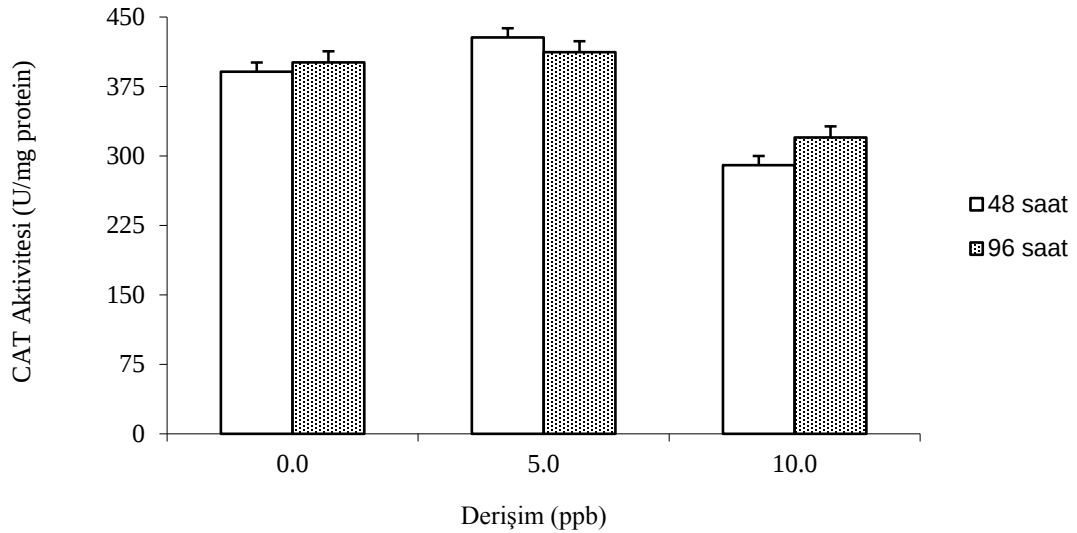
O. niloticus'ta belirli bir etkileşim süresinde karaciğer dokusundaki CAT aktivitesi üzerine abamectinin derişime bağı etkileri Çizelge 4.2'de verilmiştir. Denenen süreler dikkate alındığında CAT aktivitesinin her iki etkileşim süresinde de düşük ortam derişimin etkisinde anlamlı bir değışim göstermediğı ($P>0.05$), bununla birlikte yüksek ortam derişimin etkisinde önemli olacak şekilde azaldığı saptanmıştır ($P<0.05$). 48 ve 96 saatlik süre sonunda 10.0 ppb ABM etkisinde CAT aktivitesi sırasıyla, %26 ve %20 düzeyinde bir azalış göstermiştir.

Çizelge 4.2. Abamectinin farklı ortam derişimlerinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki CAT aktivitesine (U/mg protein) etkileri

Derişim (ppb)	48 Saat	96 Saat
0.0	391 ± 19 a	401 ± 15 a
5.0	428 ± 25 a	412 ± 31 a
10.0	290 ± 27 b	320 ± 21 b

Veriler Aritmetik ortalama ± Standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı etkileşim süresindeki derişimler arasındaki enzim aktivitelerinin ayrımını göstermek için a ve b harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

O. niloticus'ta belirli bir ortam derişiminde karaciğer CAT aktivitesi üzerine abamectinin süreye bağlı etkileri Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Süreye bağlı olarak CAT aktivitesinin, 5.0 ppb ABM derişiminde azaldığı, 10.0 ppb ABM derişiminde ise arttığı ancak bu azalış ve artışların istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).



Şekil 4.2. Abamectinin belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusu CAT aktivitesi üzerine etkisi.

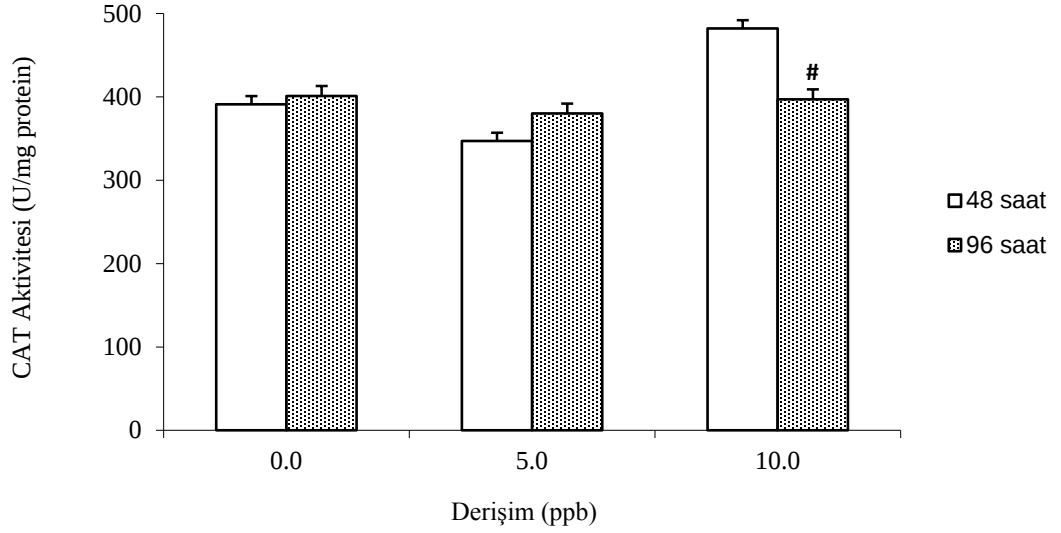
O. niloticus'ta belirli bir sürede karaciğer dokusu CAT aktivitesi üzerine emamectin benzoatın derişime bağı etkileri Çizelge 4.3'de verilmiştir. 48 saatlik süre sonunda CAT aktivitesi, 5.0 ppb EB etkisinde anlamlı bir değışim göstermezken ($P>0.05$); 10.0 ppb EB etkisinde anlamlı olacak şekilde bir artış göstermiştir ($P<0.05$). 96 saatlik süre sonunda ise CAT aktivitesi her iki ortam derişiminin etkisinde de önemli bir değışim göstermemiştir ($P>0.05$). 48 saatlik süre sonunda 10.0 ppb EB etkisinde CAT aktivitesinde yaklaşık %23 düzeyinde bir artış saptanmıştır.

Çizelge 4.3. Emamectin benzoatın farklı ortam derişimlerinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki CAT aktivitesine (U/mg protein) etkileri

Derişim (ppb)	48 Saat	96 Saat
0.0	391 $\pm$ 19 a	401 $\pm$ 15 a
5.0	347 $\pm$ 21 a	380 $\pm$ 24 a
10.0	482 $\pm$ 11 b	397 $\pm$ 18 a

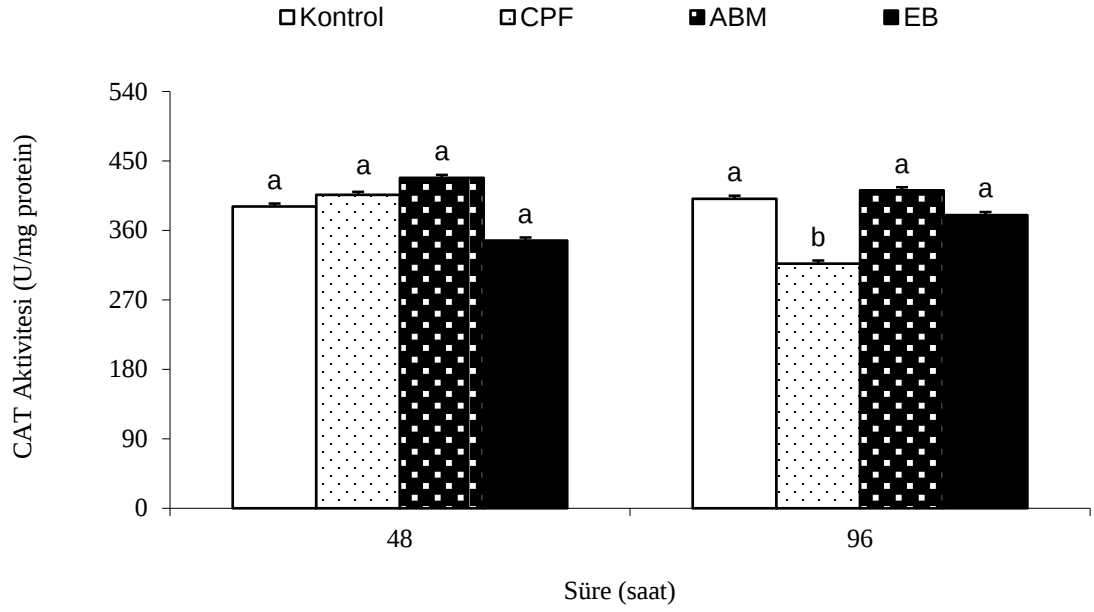
Veriler Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı etkileşim süresindeki derişimler arasındaki enzim aktivitelerinin ayırımı göstermek için a ve b harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel ayırımı olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

O. niloticus'ta belirli bir ortam derişiminde karaciğer CAT aktivitesi üzerine emamectin benzoatın süreye bağı etkileri Şekil 4.3'de gösterilmiştir. Aynı ortam derişiminde süreye bağı olarak CAT aktivitesinde anlamlı bir değışim EB'nin yüksek ortam derişiminde saptanmıştır ($P<0.05$). 10.0 ppb EB derişiminde CAT aktivitesi süre artıkça azalış göstermiştir. 48 saatlik süreye oranla 96 saatlik süre sonunda CAT aktivitesinin yüksek EB derişiminde yaklaşık olarak %18 düzeyinde azaldığı belirlenmiştir.

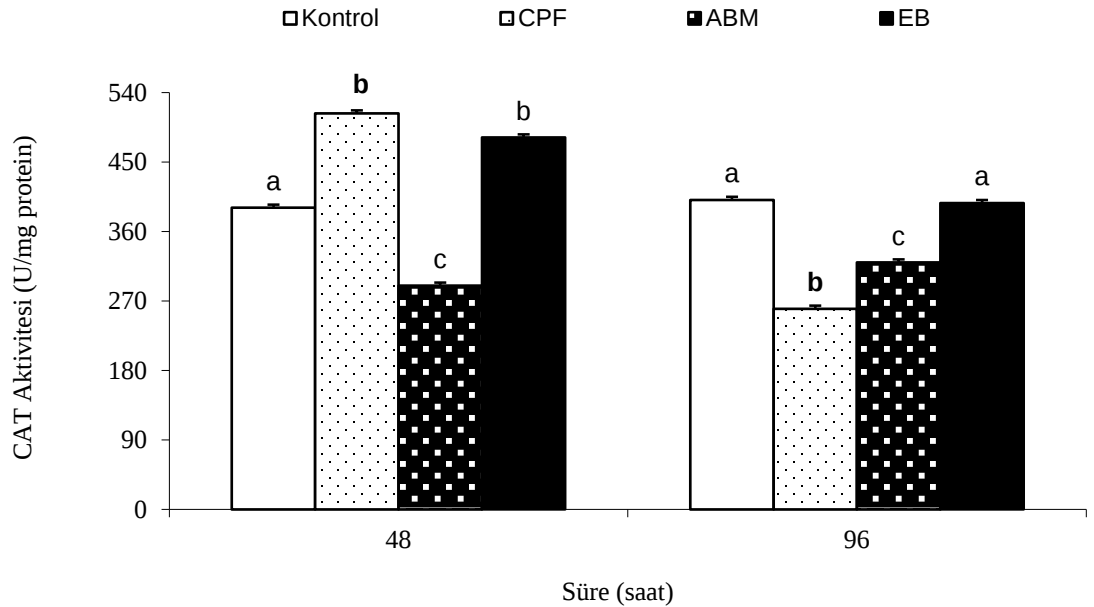


Şekil 4.3. Emamectin benzoatın belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusu CAT aktivitesi üzerine etkisi. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P<0.05$).

Belirli bir sürede ve aynı ortam derişiminde *O. niloticus*'un karaciğer CAT aktivitesi üzerine CPF, ABM ve EB etkileri Şekil 4.4 ve 4.5’de gösterilmiştir. 5.0 ppb ortam derişiminde CAT aktivitesinde 96 saatlik süre sonunda CPF etkisinde anlamlı bir azalışın olduğu ($P<0.05$); diğer pestisitlerin etkisinde ise önemli bir değişimin olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$) (Şekil 4.4). 10.0 ppb ortam derişimde CAT aktivitesinin, ilk etkileşim süresi sonunda anlamlı olacak şekilde CPF ve EB etkisinde arttığı ($P<0.05$), ABM etkisinde azaldığı ($P<0.05$) saptanırken; son etkileşim süresi sonunda CPF ve ABM etkisinde anlamlı olacak şekilde azaldığı ($P<0.05$) ve bu azalışın CPF ve ABM arasında istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir ($P<0.05$). CAT aktivitesi üzerine pestisitlerin neden olduğu etkilerin (azalış ve artışların) genel olarak CPF > ABM > EB şeklinde olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.4. 5.0 ppb pestisit ortam derişiminin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki CAT aktivitesi üzerine etkisi. Aynı etkileşim süresindeki pestisitler arasındaki enzim aktivitelerinin ayrımını göstermek için a ve b harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasında istatistiksel bir ayrım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.5. 10.0 ppb pestisit ortam derişiminin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki CAT aktivitesi üzerine etkisi. Aynı etkileşim süresindeki pestisitler arasındaki enzim aktivitelerinin ayrımını göstermek için a, b ve c harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasında istatistiksel bir ayrım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

4.2. Pestisitlerin SOD Aktivitesi Üzerine Etkileri

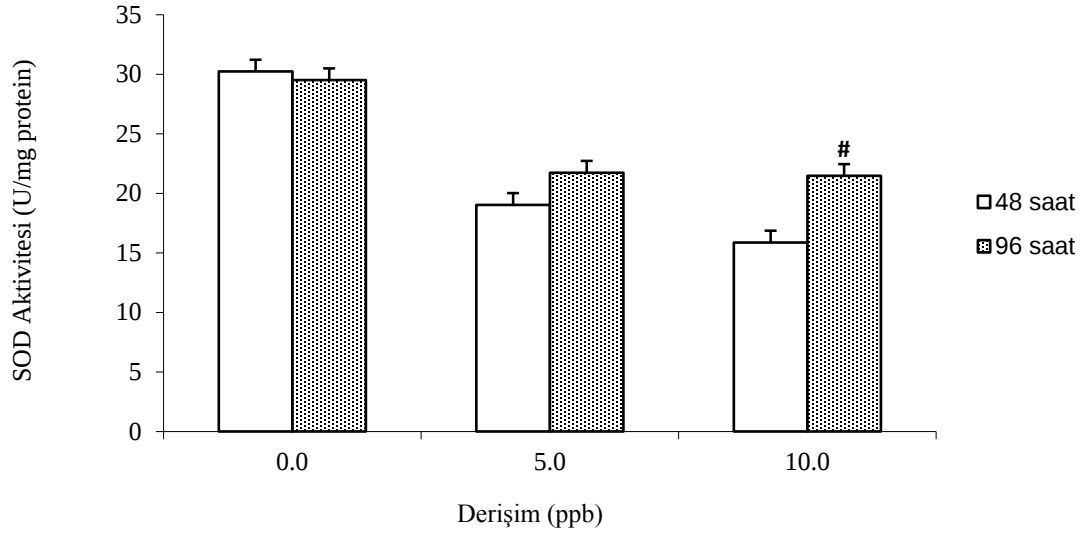
O. niloticus'ta belirli bir sürede karaciğer dokusu SOD aktivitesi üzerine chlorpyrifosun derişime bağı etkileri Çizelge 4.4'de verilmiştir. Denenen süreler dikkate alındığında SOD aktivitesinin CPF'nin ortam derişimine bağı olarak azaldığı saptanmıştır. Her iki etkileşim süresinde de 5.0 ve 10.0 ppb CPF derişiminin etkisinde enzim aktivitesinde anlamlı olacak şekilde bir azalış ($P<0.05$) ve bu azalışların da 48 saatlik süre sonunda düşük ve yüksek pestisit derişimleri arasında istatistiksel bir ayırım gösterdiği belirlenmiştir ($P<0.05$). 48 saatlik süre sonunda 5.0 ve 10.0 ppb CPF etkisinde SOD aktivitesi sırasıyla, %37 ve %48 düzeyinde bir azalış göstermiştir.

Çizelge 4.4. Chlorpyrifosun farklı ortam derişimlerinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki SOD aktivitesine (U/mg protein) etkileri

Derişim (ppb)	48 Saat	96 Saat
0.0	30.23 $\pm$ 0.77 a	29.50 $\pm$ 0.25 a
5.0	19.03 $\pm$ 0.72 b	21.73 $\pm$ 0.54 b
10.0	15.87 $\pm$ 0.52 c	21.47 $\pm$ 0.20 b

Veriler Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı etkileşim süresindeki derişimler arasındaki enzim aktivitelerinin ayırımı göstermek için a, b ve c harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel ayırım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

O. niloticus'ta belirli bir ortam derişiminde karaciğer SOD aktivitesi üzerine chlorpyrifosun süreye bağı etkileri Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Etkileşim süresi artıkça SOD aktivitesinin 5.0 ve 10.0 ppb CPF ortam derişiminde arttığı ancak bu artışın pestisit yüksek ortam derişiminde istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). 48 saatlik süreye oranla 96 saatlik süre sonunda SOD aktivitesi 10.0 ppb CPF ortam derişiminde %35 düzeyinde bir artış göstermiştir.



Şekil 4.6. Chlorpyrifosun belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusu SOD aktivitesi üzerine etkisi. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P<0.05$).

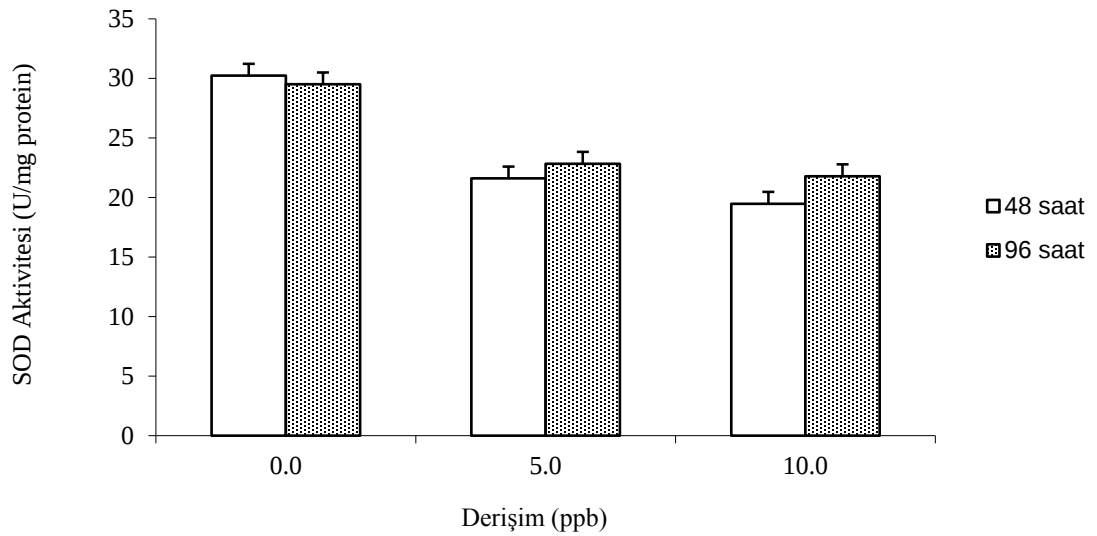
O. niloticus'ta belirli bir etkileşim süresinde karaciğer dokusundaki SOD aktivitesi üzerine abamectinin derişime bağlı etkileri Çizelge 4.5'te verilmiştir. 48 ve 96 saatlik süreler sonunda SOD aktivitesi düşük ve yüksek ortam derişimlerinin etkisinde anlamlı olacak şekilde bir azalış göstermiştir ($P<0.05$). Enzim aktivitesindeki azalışların her iki etkileşim süresinde ABM'nin ortam derişimleri arasında istatistiksel bir ayrım göstermemiştir ($P>0.05$). İlk etkileşim süresi sonunda SOD aktivitesi 5.0 ve 10.0 ppb ABM etkisinde sırasıyla, %29 ve %36 düzeyinde bir azalış göstermiştir.

Çizelge 4.5. Abamectinin farklı ortam derişimlerinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki SOD aktivitesine (U/mg protein) etkileri

Derişim (ppb)	48 Saat	96 Saat
0.0	30.23 ± 0.77 a	29.50 ± 0.25 a
5.0	21.60 ± 0.32 b	22.83 ± 0.41 b
10.0	19.47 ± 0.78 b	21.78 ± 0.23 b

Veriler Aritmetik ortalama ± Standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı etkileşim süresindeki derişimler arasındaki enzim aktivitelerinin ayrımını göstermek için a ve b harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir ($P < 0.05$).

O. niloticus'ta belirli bir ortam derişiminde karaciğer SOD aktivitesi üzerine abamectinin süreye bağlı etkileri Şekil 4.7'de gösterilmiştir. Aynı ortam derişimi dikkate alındığında SOD aktivitesinin 5.0 ve 10.0 ppb ABM ortam derişiminde 48 saatlik süreye oranla 96 saatlik süre sonunda düşük düzeylerde arttığı ve bu artışın da istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($P > 0.05$).



Şekil 4.7. Abamectinin belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusu SOD aktivitesi üzerine etkisi.

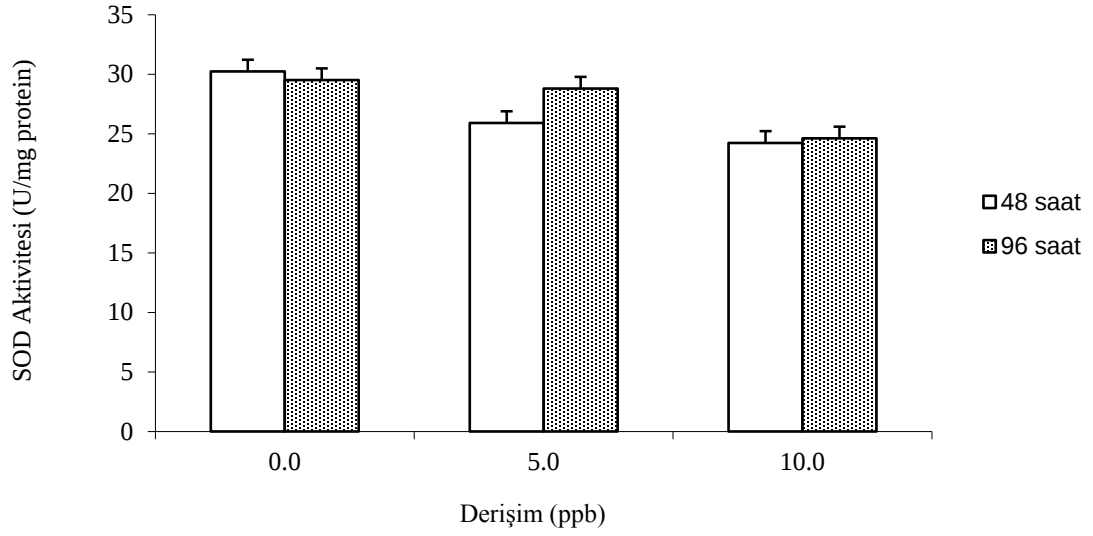
O. niloticus'ta denenen süreler sonunda karaciğer dokusu SOD aktivitesi üzerine emamectin benzoatın derişime bağı etkileri Çizelge 4.6'da verilmiştir. Belirli bir etkileşim süresi dikkate alındığında SOD aktivitesinin 48 saatlik süre sonunda EB'nin her iki ortam derişiminin, 96 saatlik süre sonunda ise sadece yüksek ortam derişiminin etkisinde anlamlı olacak şekilde azaldığı saptanmıştır ($P<0.05$). İlk etkileşim süresi sonunda SOD aktivitesi 5.0 ve 10.0 ppb EBM etkisinde sırasıyla, %15 ve %20 düzeyinde bir azalış göstermiştir.

Çizelge 4.6. Emamectin benzoatın farklı ortam derişimlerinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki SOD aktivitesine (U/mg protein) etkileri

Derişim (ppb)	48 Saat	96 Saat
0.0	30.23 $\pm$ 0.77 a	29.50 $\pm$ 0.25 a
5.0	25.90 $\pm$ 0.45 b	28.79 $\pm$ 0.34 a
10.0	24.23 $\pm$ 0.30 b	24.61 $\pm$ 0.21 b

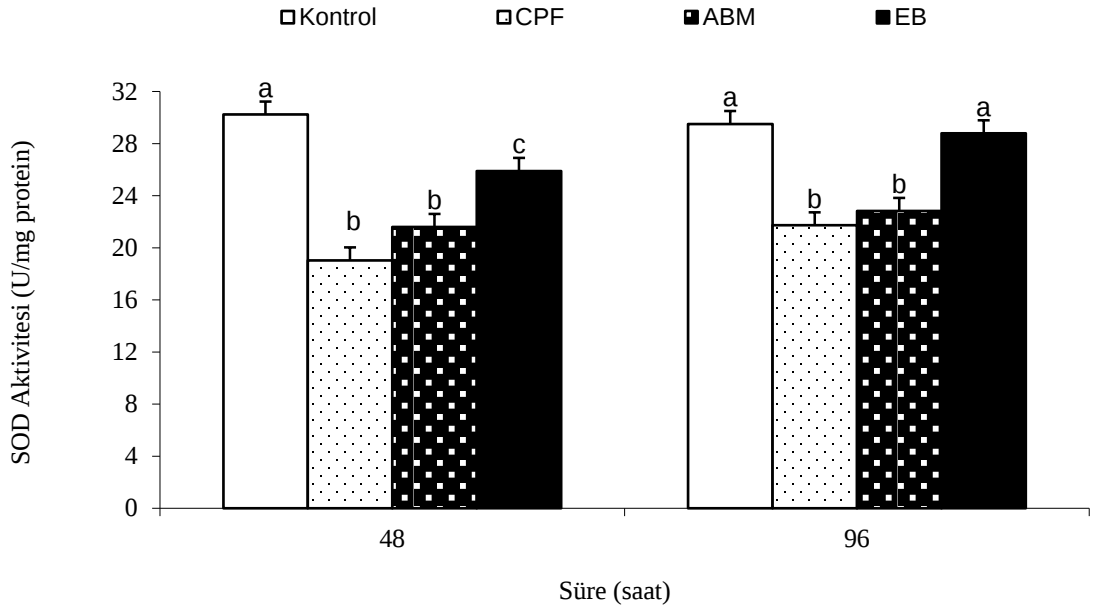
Veriler Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı etkileşim süresindeki derişimler arasındaki enzim aktivitelerinin ayrımını göstermek için a ve b harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

O. niloticus'ta denenen ortam derişimlerinde karaciğer SOD aktivitesi üzerine emamectin benzoatın süreye bağı etkileri Şekil 4.8'de gösterilmiştir. Belirli bir ortam derişimi dikkate alındığında SOD aktivitesi, 5.0 ve 10.0 ppb EB ortam derişiminde süreye bağı olarak anlamlı bir istatistiksel değışim göstermemiştir ($P>0.05$).

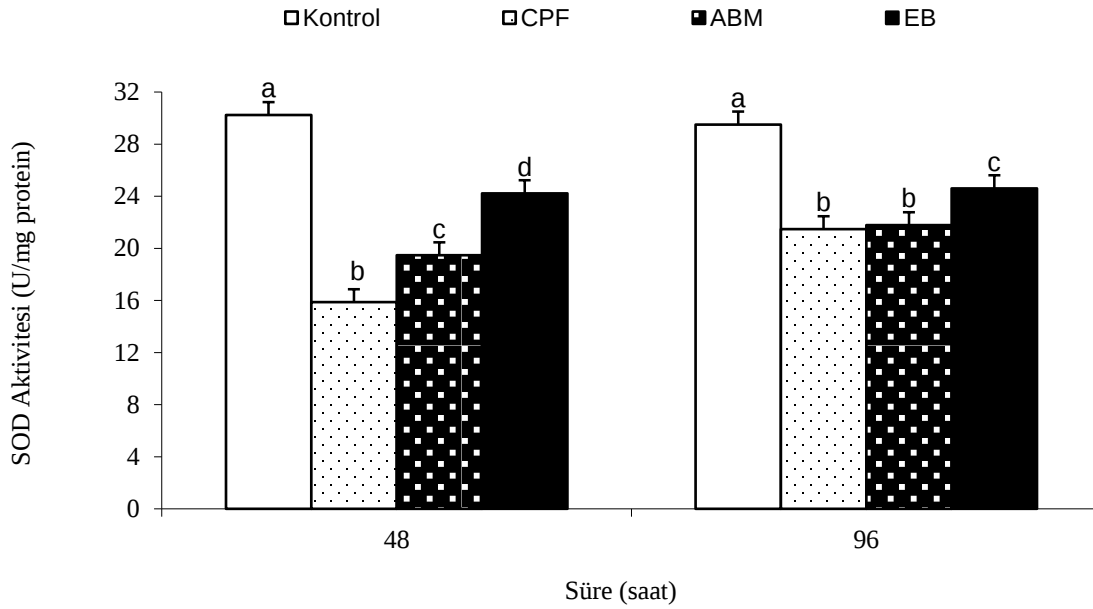


Şekil 4.8. Emamectin benzoatın belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusu SOD aktivitesi üzerine etkisi.

Belirli bir sürede ve aynı ortam derişiminde *O. niloticus*'un karaciğer SOD aktivitesi üzerine CPF, ABM ve EB etkileri Şekil 4.9 ve 4.10'da gösterilmiştir. 5.0 ppb ortam derişiminde SOD aktivitesi 48 saatlik süre sonunda denenen tüm pestisitlerin etkisinde; 96 saatlik süre sonunda ise CPF ve ABM etkisinde anlamlı bir azalış göstermiştir ($P<0.05$) (Şekil 4.9). Yüksek ortam derişiminde ise, her iki etkileşim süresinde de SOD aktivitesi denenen tüm pestisitlerde önemli olacak şekilde azalmış ($P<0.05$) ve bu azalışlar 48 saatlik süre sonunda CPF, ABM ve EB arasında istatistiksel bir ayrım göstermiştir ($P<0.05$) (Şekil 4.10). SOD aktivitesi üzerine pestisitlerin neden olduğu azalışların genel olarak CPF > ABM > EB şeklinde olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.9. 5.0 ppb pestisit ortam derişiminin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki SOD aktivitesi üzerine etkisi. Aynı etkileşim süresindeki pestisitler arasındaki enzim aktivitelerinin ayrımını göstermek için a, b ve c harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasında istatistiksel bir ayrım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.10. 10.0 ppb pestisit ortam derişiminin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki SOD aktivitesi üzerine etkisi. Aynı etkileşim süresindeki pestisitler arasındaki enzim aktivitelerinin ayrımını göstermek için a, b, c ve d harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasında istatistiksel bir ayrım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

4.3. Pestisitlerin GR Aktivitesi Üzerine Etkileri

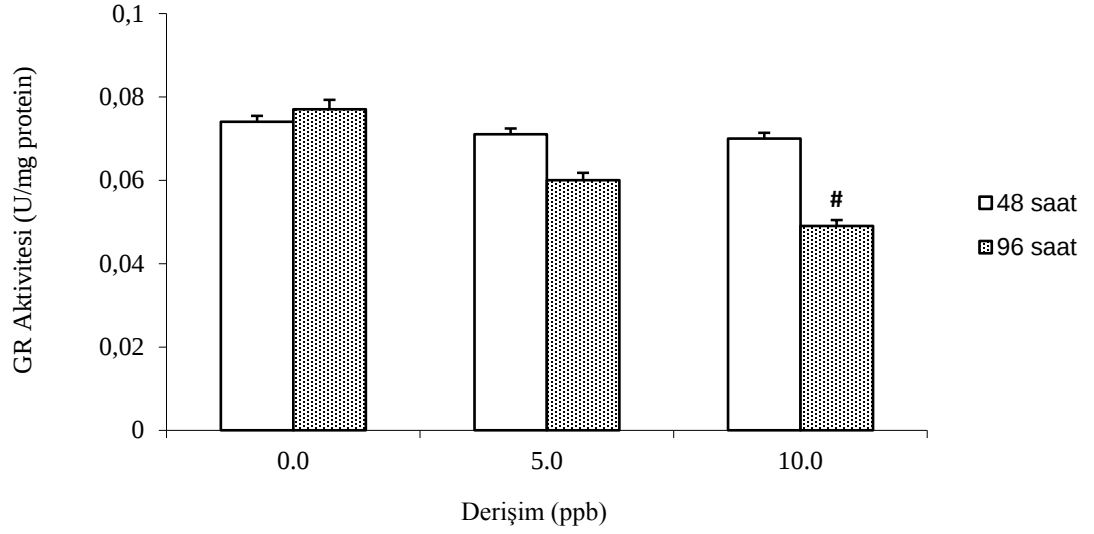
O. niloticus'ta belirli bir sürede karaciğer dokusundaki GR aktivitesi üzerine chlorpyrifosun derişime bağı etkileri Çizelge 4.7'de verilmiştir. Etkileşim süreleri dikkate alındığında CAT aktivitesinin, 48 saatlik süre sonunda CPF'nin her iki ortam derişiminin etkisinde önemli bir değışim göstermediğı ($P>0.05$); bununla birlikte 96 saatlik süre sonunda 5.0 ve 10.0 ppb CPF etkisinde anlamlı olacak şekilde azaldığı belirlenmiştir ($P<0.05$). Son etkileşim süresindeki gözlenen azalışlar, düşük ve yüksek CPF derişimleri arasında anlamlı bir istatistiksel ayrım göstermiştir ($P<0.05$). 96 saatlik süre sonunda 5.0 ve 10.0 ppb CPF etkisinde GR aktivitesinde sırasıyla, %22 ve %36 düzeyinde bir azalış belirlenmiştir.

Çizelge 4.7. Chlorpyrifosun farklı ortam derişimlerinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki GR aktivitesine (U/mg protein) etkileri

Derişim (ppb)	48 Saat	96 Saat
0.0	0.074 $\pm$ 0.001 a	0.077 $\pm$ 0.002 a
5.0	0.071 $\pm$ 0.004 a	0.060 $\pm$ 0.003 b
10.0	0.070 $\pm$ 0.003 a	0.049 $\pm$ 0.002 c

Veriler Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı etkileşim süresindeki derişimler arasındaki enzim aktivitelerinin ayrımını göstermek için a, b ve c harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

O. niloticus'ta belirli bir ortam derişiminde karaciğer GR aktivitesi üzerine chlorpyrifosun süreye bağı etkileri Şekil 4.11'de gösterilmiştir. Aynı ortam derişimi dikkate alındığında GR aktivitesinin CPF'nin her iki ortam derişiminde de süreye bağı olarak azaldığı ancak bu azalışların yüksek ortam derişiminde denenen süreler arasında istatistiksel bir ayrım gösterdiği belirlenmiştir ($P<0.05$). 48 saatlik süreye oranla 96 saatlik süre sonunda 10.0 ppb CFP etkisinde GR aktivitesi %30 düzeyinde bir azalış göstermiştir.



Şekil 4.11. Chlorpyrifosun belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusu GR aktivitesi üzerine etkisi. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P<0.05$).

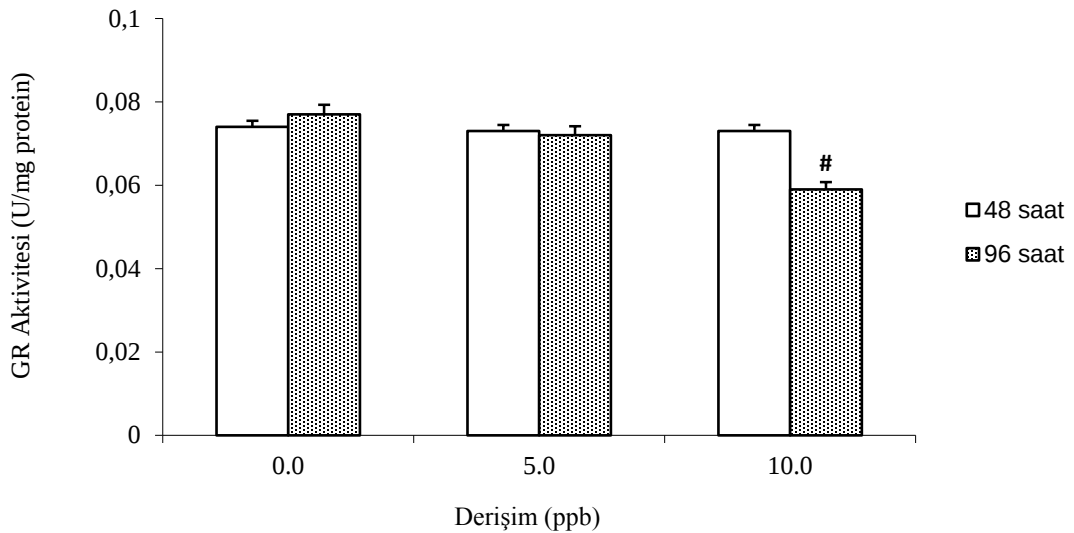
O. niloticus'ta belirli bir sürede karaciğer dokusundaki GR aktivitesi üzerine abamectinin derişime bağlı etkileri Çizelge 4.8'de verilmiştir. Denenen süreler dikkate alındığında GR aktivitesi, ilk etkileşim süresi sonunda ABM'nin düşük ve yüksek ortam derişimlerinde önemli bir değışim göstermezken ($P>0.05$); 96 saatlik süre sonunda 10.0 ppb ABM etkisinde anlamlı olacak şekilde bir azalış göstermiştir ($P<0.05$). 96 saatlik süre sonunda yüksek ABM derişiminde GR aktivitesinde yaklaşık olarak %23 düzeyinde bir azalış belirlenmiştir.

Çizelge 4.8. Abamectinin farklı ortam derişimlerinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki GR aktivitesine (U/mg protein) etkileri

Derişim (ppb)	48 Saat	96 Saat
0.0	0.074 ± 0.001 a	0.077 ± 0.002 a
5.0	0.073 ± 0.002 a	0.072 ± 0.002 a
10.0	0.073 ± 0.003 a	0.059 ± 0.003 b

Veriler Aritmetik ortalama ± Standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı etkileşim süresindeki derişimler arasındaki enzim aktivitelerinin ayrımını göstermek için a ve b harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel ayrımı olduğunu göstermektedir (P<0.05).

O. niloticus'ta belirli bir ortam derişiminde karaciğer GR aktivitesi üzerine abamectinin süreye bağlı etkileri Şekil 4.12'de gösterilmiştir. 10.0 ppb ABM derişiminde süre artıkça GR aktivitesinin anlamlı olacak şekilde azaldığı belirlenmiştir (P<0.05). 48 saatlik süreye oranla 96 saatlik süre sonunda 10.0 ppb ABM etkisinde GR aktivitesi yaklaşık olarak %20 düzeyinde bir azalış göstermiştir.



Şekil 4.12. Abamectinin belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusu GR aktivitesi üzerine etkisi. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir (P<0.05).

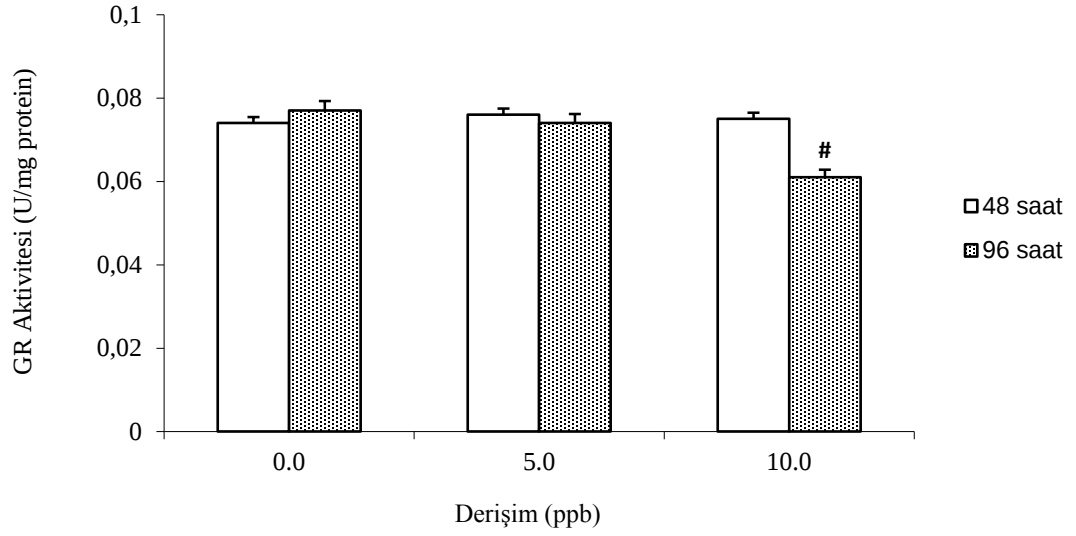
O. niloticus'ta denenen sürelerde karaciğer dokusundaki GR aktivitesi üzerine emamectin benzoatın derişime bağı etkileri Çizelge 4.9'da verilmiştir. Belirli bir etkileşim süresi dikkate alındığında GR aktivitesi, 48 saatlik süre sonunda EB'nin her iki ortam derişiminin etkisinde anlamlı bir değışim göstermezken ($P>0.05$); son etkileşim süresi sonunda yüksek EB derişiminin etkisinde önemli olacak şekilde bir azalış göstermiştir ($P<0.05$). 96 saatlik süre sonunda 10.0 ppb EB derişiminde GR aktivitesinde yaklaşık olarak %21 düzeyinde bir azalış saptanmıştır.

Çizelge 4.9. Emamectin benzoatın farklı ortam derişimlerinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki GR aktivitesine (U/mg protein) etkileri

Derişim (ppb)	48 Saat	96 Saat
0.0	0.074 $\pm$ 0.001 a	0.077 $\pm$ 0.002 a
5.0	0.076 $\pm$ 0.003 a	0.074 $\pm$ 0.001 a
10.0	0.075 $\pm$ 0.004 a	0.061 $\pm$ 0.002 b

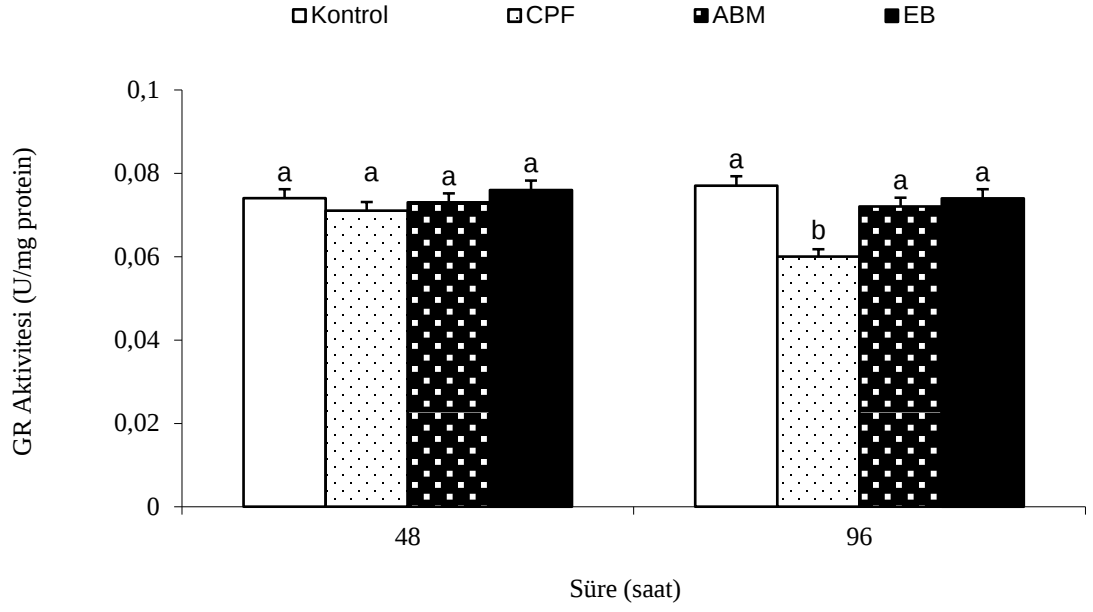
Veriler Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı etkileşim süresindeki derişimler arasındaki enzim aktivitelerinin ayrımını göstermek için a ve b harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel ayırım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

O. niloticus'ta aynı ortam derişiminde karaciğer GR aktivitesi üzerine emamectin benzoatın süreye bağı etkileri Şekil 4.13'te gösterilmiştir. Belirli bir ortam derişimi dikkate alındığında süreye bağı olarak GR aktivitesi EB'nin düşük derişiminde anlamlı bir değışim göstermezken ($P>0.05$); yüksek derişiminde önemli olacak şekilde bir azalış göstermiştir ($P<0.05$). 48 saatlik süreye oranla 96 saatlik süre sonunda 10.0 ppb EB etkisinde GR aktivitesi yaklaşık olarak %19 düzeyinde bir azalış göstermiştir.

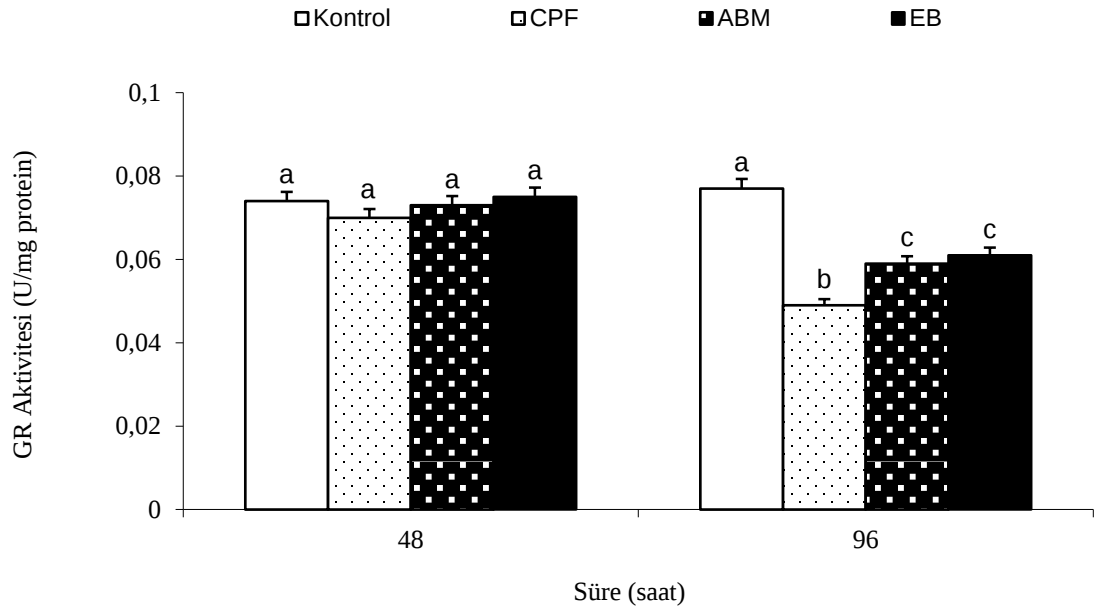


Şekil 4.13. Emamectin benzoatın belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusu GR aktivitesi üzerine etkisi. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P<0.05$).

Belirli bir sürede ve aynı ortam derişiminde *O. niloticus*'un karaciğer GR aktivitesi üzerine CPF, ABM ve EB etkileri Şekil 4.14 ve 4.15'te gösterilmiştir. 5.0 ppb ortam derişiminde GR aktivitesi 96 saatlik süre sonunda yalnızca CPF etkisinde anlamlı bir azalış göstermiştir ($P<0.05$) (Şekil 4.14). 10.0 ppb ortam derişiminde ise, son etkileşim süresi sonunda GR aktivitesi denenen tüm pestisitlerde anlamlı olacak şekilde azalmıştır ($P<0.05$) (Şekil 4.10). 96 saatlik süre sonunda ve yüksek ortam derişiminde CPF istatistiksel olarak ABM ve EB etkisine göre GR aktivitesini daha çok azaltmıştır ($P<0.05$). GR aktivitesi üzerine pestisitlerin neden olduğu azalışların genel olarak CPF > ABM > EB şeklinde olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.14. 5.0 ppb pestisit ortam derişiminin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki GR aktivitesi üzerine etkisi. Aynı etkileşim süresindeki pestisitler arasındaki enzim aktivitelerinin ayırımını göstermek için a ve b harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasında istatistiksel bir ayırım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.15. 10.0 ppb pestisit ortam derişiminin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki GR aktivitesi üzerine etkisi. Aynı etkileşim süresindeki pestisitler arasındaki enzim aktivitelerinin ayırımını göstermek için a, b ve c harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasında istatistiksel bir ayırım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

4.4. Pestisitlerin GSH Düzeyi Üzerine Etkileri

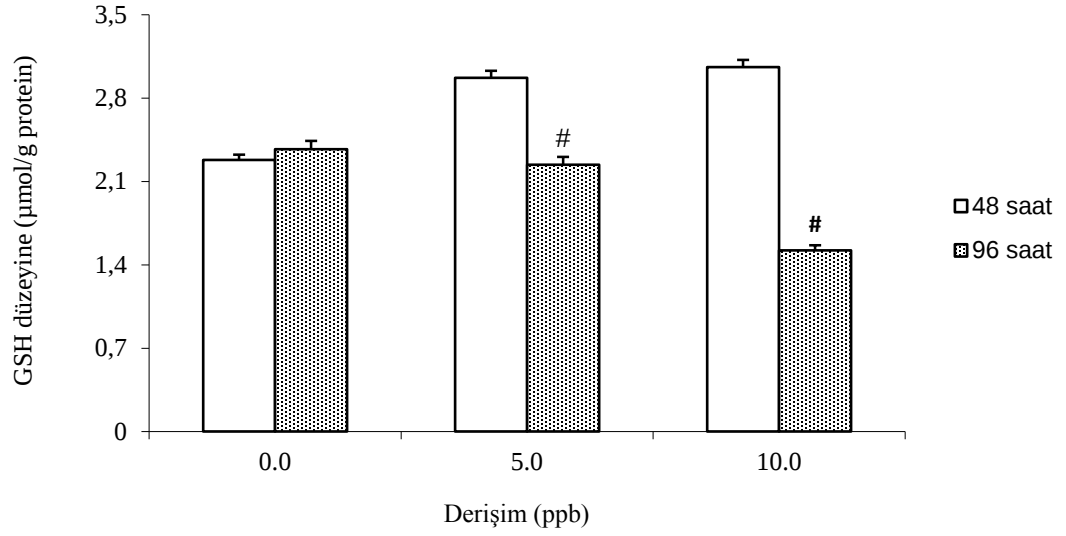
O. niloticus'ta belirli bir sürede karaciğer dokusundaki GSH düzeyi üzerine chlorpyrifosun derişime bağı etkileri Çizelge 4.10'da verilmiştir. GSH düzeyinin 48 saatlik süre sonunda 5.0 ppb ve 10 ppb CPF derişiminin etkisinde anlamlı olacak şekilde arttığı ($P<0.05$) ancak bu artışın düşük ve yüksek CPF derişimleri arasında anlamlı bir istatistiksel ayırım göstermediği saptanmıştır ($P>0.05$). 96 saatlik süre sonunda ise GSH düzeyinin, düşük CPF derişiminin etkisinde önemli bir değışim göstermediği ($P>0.05$) bununla birlikte yüksek CPF derişiminin etkisinde anlamlı olacak şekilde azaldığı belirlenmiştir ($P<0.05$). 10.0 ppb CPF etkisinde GSH düzeyi 48 saatlik süre sonunda %34 düzeyinde bir artış göstermişken, 96 saatlik süre sonunda %36 düzeyinde bir azalış göstermiştir.

Çizelge 4.10. Chlorpyrifosun farklı ortam derişimlerinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki GSH düzeyine ($\mu\text{mol/g}$ protein) etkileri

Derişim (ppb)	48 Saat	96 Saat
0.0	2.28 $\pm$ 0.11 a	2.37 $\pm$ 0.14 a
5.0	2.97 $\pm$ 0.13 b	2.24 $\pm$ 0.20 a
10.0	3.06 $\pm$ 0.22 b	1.52 $\pm$ 0.15 b

Veriler Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı etkileşim süresindeki derişimler arasındaki enzim aktivitelerinin ayırımı göstermek için a ve b harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel ayırım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

O. niloticus'ta belirli bir ortam derişiminde karaciğer GSH düzeyi üzerine chlorpyrifosun süreye bağı etkileri Şekil 4.16'da gösterilmiştir. Aynı ortam derişimlerinin etkisinde süre artıkça GSH düzeyinde azalmalar gözlenmiştir. GSH düzeyi düşük ve yüksek CPF ortam derişimlerinde süreye bağı olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($P<0.05$). 48 saatlik süreye oranla 96 saatlik süre sonunda GSH düzeyinde 5.0 ve 10.0 ppb CPF ortam derişimlerinde sırasıyla, %24 ve %50 düzeyinde bir azalış belirlenmiştir. Bu durum etkileşim süresi artıkça GSH düzeyinde gözlenen azalışın yüksek CPF etkisinde daha fazla olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.16. Chlorpyrifosun belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusu GSH düzeyi üzerine etkisi. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P < 0.05$).

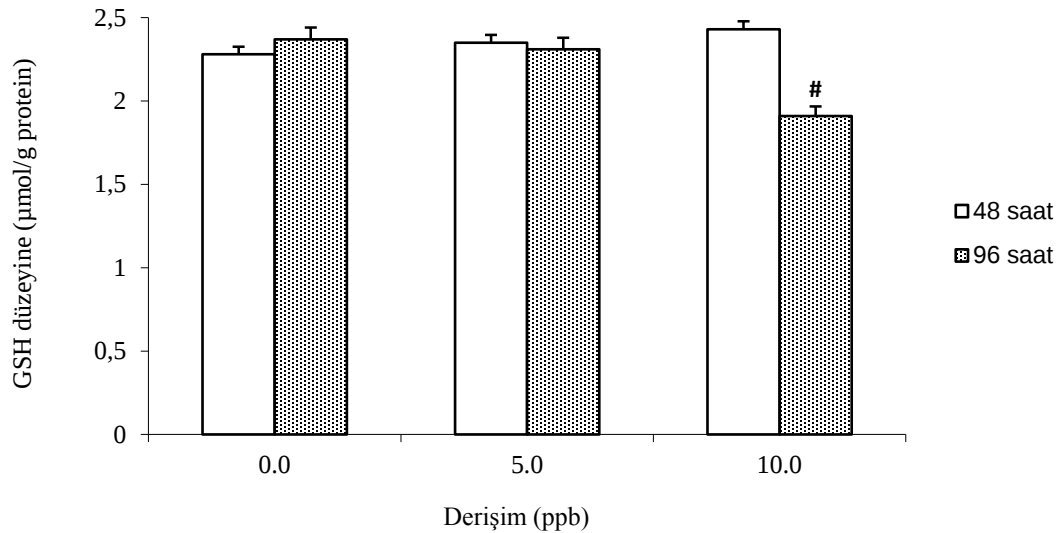
O. niloticus'ta belirli bir sürede karaciğer dokusundaki GSH düzeyi üzerine abamectinin derişime bağlı etkileri Çizelge 4.11'de verilmiştir. Etkileşim süreleri dikkate alındığında GSH düzeyinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 48 saatlik süre sonunda ABM'nin her iki ortam derişiminin etkisinde önemli bir değişim göstermediği ($P > 0.05$); 96 saatlik süre sonunda ise yüksek ortam derişiminin etkisinde anlamlı bir şekilde azaldığı ($P < 0.05$) belirlenmiştir. 96 saatlik süre sonunda 10.0 ppb ABM derişiminin etkisinde GSH düzeyinde yaklaşık olarak %20 düzeyinde bir azalış saptanmıştır.

Çizelge 4.11. Abamectinin farklı ortam derişimlerinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki GSH düzeyine ($\mu\text{mol/g}$ protein) etkileri

Derişim (ppb)	48 Saat	96 Saat
0.0	2.28 ± 0.11 a	2.37 ± 0.14 a
5.0	2.35 ± 0.18 a	2.31 ± 0.16 a
10.0	2.43 ± 0.24 a	1.91 ± 0.09 b

Veriler Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı etkileşim süresindeki derişimler arasındaki enzim aktivitelerinin ayrımını göstermek için a ve b harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir ($P < 0.05$).

O. niloticus'ta aynı ortam derişiminde karaciğer GSH düzeyi üzerine abamectinin süreye bağlı etkileri Şekil 4.17'de gösterilmiştir. Belirli bir ortam derişimi dikkate alındığında süreye bağlı olarak GSH düzeyi ABM'nin düşük derişiminde anlamlı bir değişim göstermezken ($P > 0.05$); yüksek derişiminde önemli olacak şekilde bir azalış göstermiştir ($P < 0.05$). 48 saatlik süreye oranla 96 saatlik süre sonunda 10.0 ppb ABM derişiminde GSH düzeyinde yaklaşık olarak %21 düzeyinde bir azalış belirlenmiştir.



Şekil 4.17. Abamectinin belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusu GSH düzeyi üzerine etkisi. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P < 0.05$).

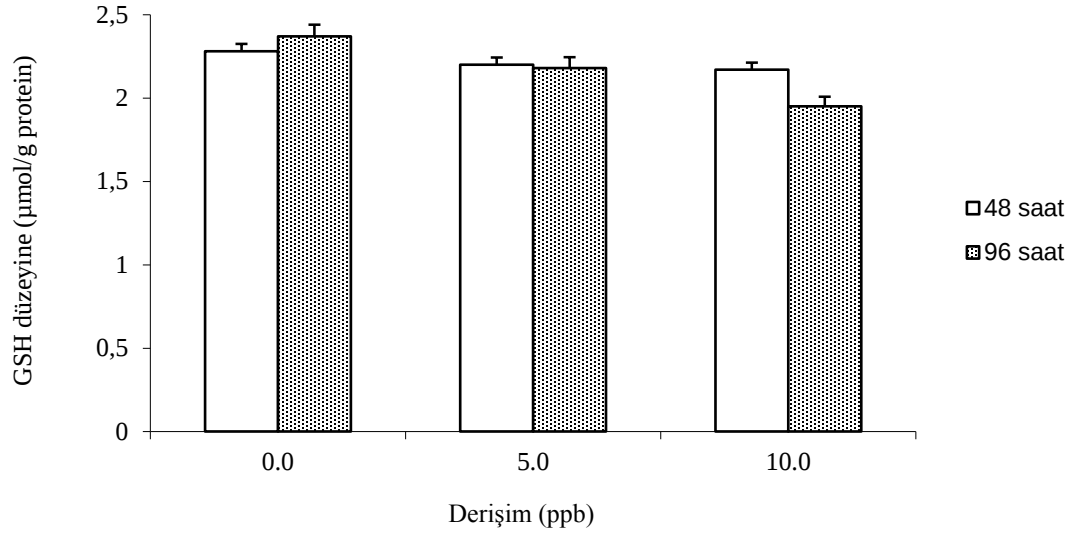
O. niloticus'ta belirli bir sürede karaciğer dokusundaki GSH düzeyi üzerine emamectin benzoatın derişime bağı etkileri Çizelge 4.12'de verilmiştir. Denenen süreler dikkate alındığında GSH düzeyinin, 48 saatlik süre sonunda EB'nin düşük ve yüksek ortam derişiminin etkisinde önemli bir değışim göstermediğı ($P>0.05$); 96 saatlik süre sonunda ise yüksek ortam derişiminin etkisinde anlamlı bir şekilde azaldığı ($P<0.05$) saptanmıştır. 96 saatlik süre sonunda 10.0 ppb EB derişiminin etkisinde GSH düzeyi yaklaşık olarak %18 düzeyinde bir azalış göstermiştir.

Çizelge 4.12. Emamectin benzoatın farklı ortam derişimlerinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki GSH düzeyine ($\mu\text{mol/g}$ protein) etkileri

Derişim (ppb)	48 Saat	96 Saat
0.0	2.28 $\pm$ 0.11 a	2.37 $\pm$ 0.14 a
5.0	2.20 $\pm$ 0.23 a	2.18 $\pm$ 0.19 a
10.0	2.17 $\pm$ 0.18 a	1.95 $\pm$ 0.12 b

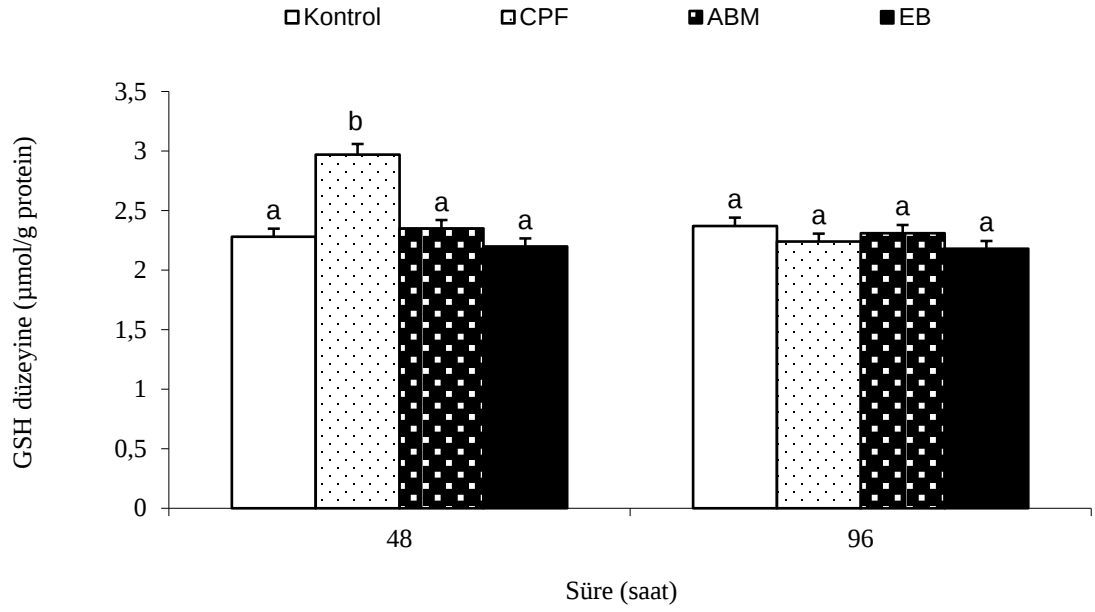
Veriler Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı etkileşim süresindeki derişimler arasındaki enzim aktivitelerinin ayrımını göstermek için a ve b harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

O. niloticus'ta denenen ortam derişimlerinde karaciğer GSH düzeyi üzerine emamectin benzoatın süreye bağı etkileri Şekil 4.18'de gösterilmiştir. Belirli bir ortam derişimi dikkate alındığında GSH düzeyinde 5.0 ve 10.0 ppb EB ortam derişiminde etki süresine bağı olarak anlamlı bir istatistiksel değışim gözlenmemiştir ($P>0.05$).

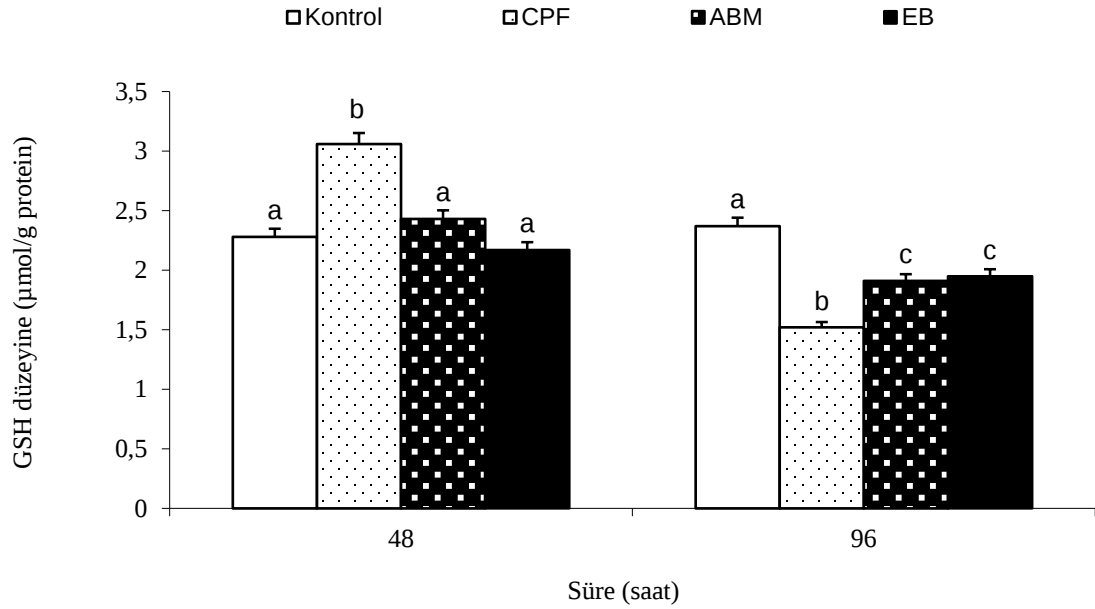


Şekil 4.18. Emamectin benzoatın belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusu GSH düzeyi üzerine etkisi.

Belirli bir sürede ve aynı ortam derişiminde *O. niloticus*'un karaciğer GSH düzeyi üzerine CPF, ABM ve EB etkileri Şekil 4.19 ve 4.20'de gösterilmiştir. 5.0 ppb ortam derişiminde GSH düzeyi 48 saatlik süre sonunda CPF etkisinde anlamlı bir artış göstermiştir ($P<0.05$) (Şekil 4.19). 10.0 ppb ortam derişiminde ise, GSH düzeyinde ilk etkileşim süresi sonunda CPF etkisinde önemli bir artış ($P<0.05$), son etkileşim süresi sonunda denenen tüm pestisitlerde anlamlı olacak şekilde bir azalış belirlenmiştir ($P<0.05$) (Şekil 4.20). 96 saatlik süre sonunda ve yüksek ortam derişiminde CPF istatistiksel olarak ABM ve EB etkisine göre GSH düzeyini daha çok azaltmıştır ($P<0.05$). GSH düzeyi üzerine pestisitlerin neden olduğu azalışların genel olarak CPF > ABM > EB şeklinde olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.19. 5.0 ppb pestisit ortam derişiminin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki GSH düzeyi üzerine etkisi. Aynı etkileşim süresindeki pestisitler arasındaki enzim aktivitelerinin ayırımını göstermek için a ve b harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasında istatistiksel bir ayrım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.20. 10.0 ppb pestisit ortam derişiminin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki GSH düzeyi üzerine etkisi. Aynı etkileşim süresindeki pestisitler arasındaki enzim aktivitelerinin ayırımını göstermek için a, b ve c harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasında istatistiksel bir ayrım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

4.5. Pestisitlerin MDA Düzeyi Üzerine Etkileri

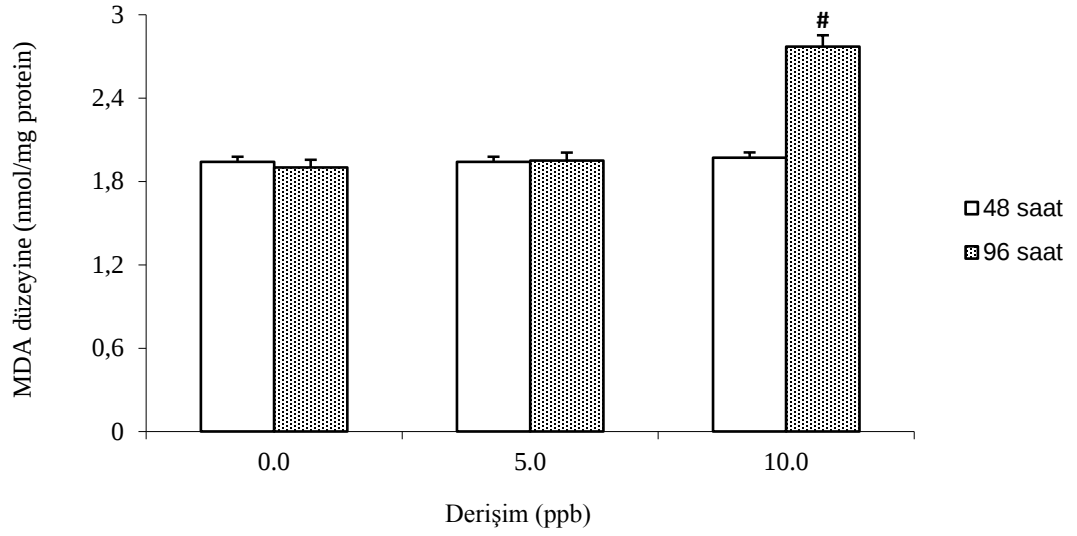
O. niloticus'ta belirli bir sürede karaciğer dokusundaki MDA düzeyi üzerine chlorpyrifosun derişime bağı etkileri Çizelge 4.13'de verilmiştir. MDA düzeyi, 48 saatlik süre sonunda CPF'nin her iki ortam derişiminin etkisinde önemli bir değışim göstermezken ($P>0.05$); 96 saatlik süre sonunda yüksek CPF derişiminin etkisinde anlamlı bir artış göstermiştir ($P<0.05$). 10.0 ppb CPF etkisinde MDA düzeyinde 96 saatlik süre sonunda %46 düzeyinde bir artış belirlenmiştir.

Çizelge 4.13. Chlorpyrifosun farklı ortam derişimlerinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki MDA düzeyine (nmol/mg protein) etkileri

Derişim (ppb)	48 Saat	96 Saat
0.0	1.94 $\pm$ 0.02 a	1.90 $\pm$ 0.03 a
5.0	1.94 $\pm$ 0.04 a	1.95 $\pm$ 0.02 a
10.0	1.97 $\pm$ 0.03 a	2.77 $\pm$ 0.04 b

Veriler Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı etkileşim süresindeki derişimler arasındaki enzim aktivitelerinin ayrımını göstermek için a ve b harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

O. niloticus'ta aynı ortam derişiminde karaciğer MDA düzeyi üzerine chlorpyrifosun süreye bağı etkileri Şekil 4.21'de gösterilmiştir. Belirli bir ortam derişimi dikkate alındığında süreye bağı olarak MDA düzeyi CPF'nin düşük derişiminde anlamlı bir değışim göstermezken ($P>0.05$); yüksek derişiminde önemli olacak şekilde bir artış göstermiştir ($P<0.05$). 48 saatlik süreye oranla 96 saatlik süre sonunda 10.0 ppb CPF derişiminde MDA düzeyinde yaklaşık olarak %41 düzeyinde bir artış saptanmıştır.



Şekil 4.21. Chlorpyrifosun belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusu MDA düzeyi üzerine etkisi. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P < 0.05$).

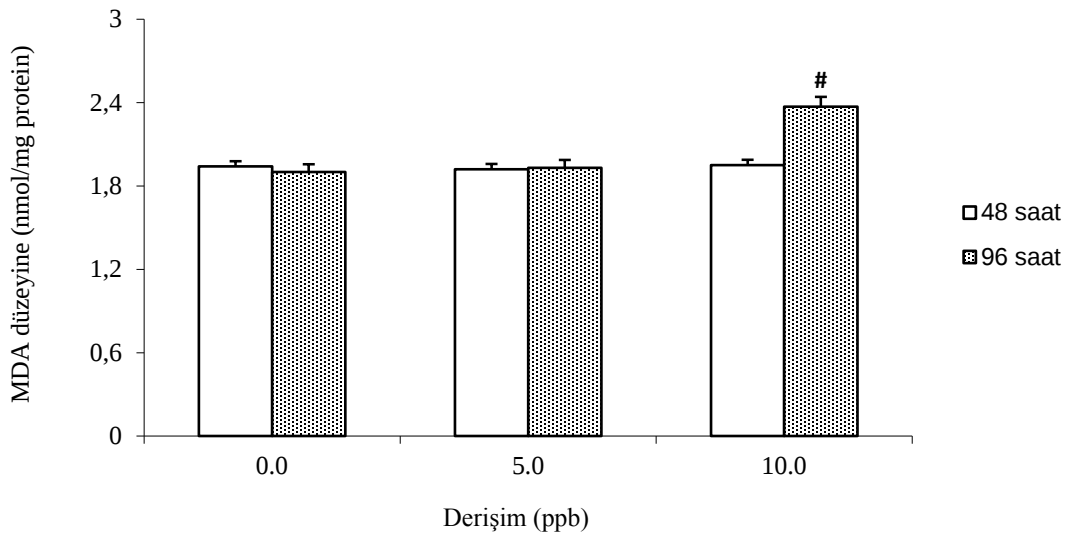
O. niloticus'ta belirli bir sürede karaciğer dokusundaki MDA düzeyi üzerine abamectinin derişime bağlı etkileri Çizelge 4.14'te verilmiştir. Belirli bir etkileşim süresi dikkate alındığında MDA düzeyi, 48 saatlik süre sonunda ABM'nin düşük ve yüksek ortam derişimlerinin etkisinde önemli bir değişim göstermezken ($P > 0.05$); 96 saatlik süre sonunda yüksek ABM derişiminin etkisinde anlamlı bir artış göstermiştir ($P < 0.05$). Son etkileşim süresi sonunda 10.0 ppb ABM etkisinde MDA düzeyinde %25 düzeyinde bir artış belirlenmiştir.

Çizelge 4.14. Abamectinin farklı ortam derişimlerinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki MDA düzeyine (nmol/mg protein) etkileri

Derişim (ppb)	48 Saat	96 Saat
0.0	1.94 ± 0.02 a	1.90 ± 0.03 a
5.0	1.92 ± 0.02 a	1.93 ± 0.04 a
10.0	1.95 ± 0.04 a	2.37 ± 0.03 b

Veriler Aritmetik ortalama ± Standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı etkileşim süresindeki derişimler arasındaki enzim aktivitelerinin ayrımını göstermek için a ve b harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir ($P < 0.05$).

O. niloticus'ta belirli bir ortam derişiminde karaciğer MDA düzeyi üzerine abamectinin süreye bağlı etkileri Şekil 4.22'de gösterilmiştir. Etkileşim sürelerine bağlı olarak MDA düzeyi ABM'nin 5.0 ppb ortam derişiminde önemli bir değişim göstermezken ($P > 0.05$); yüksek ortam derişiminde anlamlı bir artış göstermiştir ($P < 0.05$). 48 saatlik süreye oranla 96 saatlik süre sonunda 10.0 ppb ABM derişiminde MDA düzeyinde yaklaşık olarak %22 düzeyinde bir artış saptanmıştır.



Şekil 4.22. Abamectinin belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusu MDA düzeyi üzerine etkisi. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P < 0.05$).

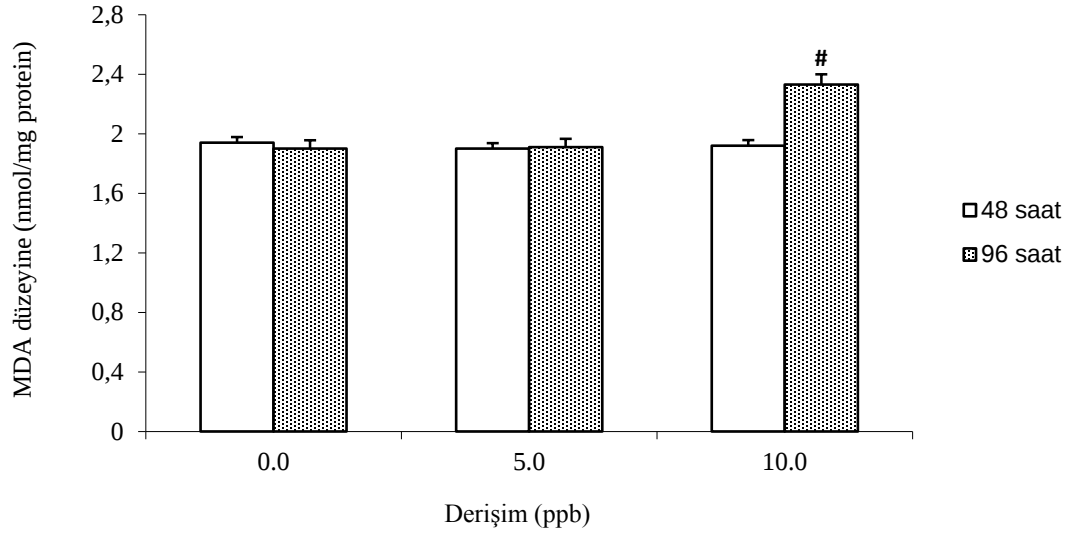
O. niloticus'ta belirli bir sürede karaciğer dokusundaki MDA düzeyi üzerine emamectin benzoatın derişime bağı etkileri Çizelge 4.15'te verilmiştir. Denenen süreler dikkate alındığında MDA düzeyi, 48 saatlik süre sonunda EB'nin 5.0 ve 10.0 ppb derişimlerinin etkisinde önemli bir değışim göstermezken ($P>0.05$); 96 saatlik süre sonunda yüksek EB derişiminin etkisinde anlamlı bir artış göstermiştir ($P<0.05$). 96 saatlik süre sonunda 10.0 ppb EB derişiminin etkisinde MDA düzeyinde yaklaşık olarak %23 düzeyinde bir artış belirlenmiştir.

Çizelge 4.15. Emamectin benzoatın farklı ortam derişimlerinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki MDA düzeyine (nmol/mg protein) etkileri

Derişim (ppb)	48 Saat	96 Saat
0.0	1.94 $\pm$ 0.02 a	1.90 $\pm$ 0.03 a
5.0	1.90 $\pm$ 0.03 a	1.91 $\pm$ 0.02 a
10.0	1.92 $\pm$ 0.03 a	2.33 $\pm$ 0.05 b

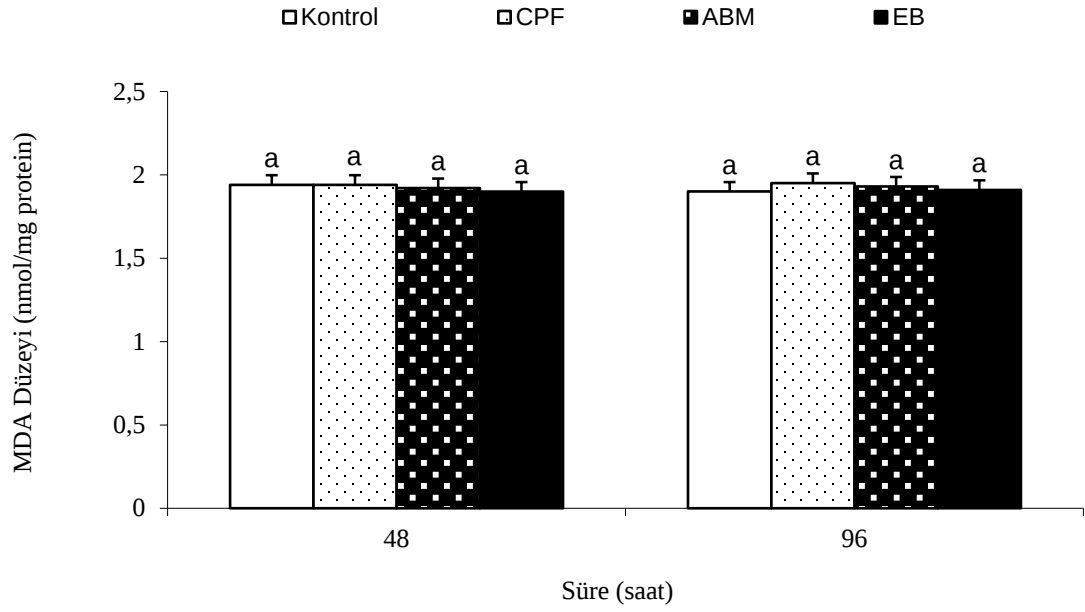
Veriler Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı etkileşim süresindeki derişimler arasındaki enzim aktivitelerinin ayırımı göstermek için a ve b harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler veriler arasındaki istatistiksel ayırım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

O. niloticus'ta belirli bir ortam derişiminde karaciğer MDA düzeyi üzerine emamectin benzoatın süreye bağı etkileri Şekil 4.23'de gösterilmiştir. Etkileşim süreleri arasında MDA düzeyi EB'nin 5.0 ppb ortam derişiminde önemli bir istatistiksel ayırım göstermezken ($P>0.05$); yüksek ortam derişiminde anlamlı bir istatistiksel ayırım ($P<0.05$) göstermiştir. İlk etkileşim süresine oranla 96 saatlik süre sonunda 10.0 ppb EB derişiminde MDA düzeyinde yaklaşık olarak %21 düzeyinde bir artış belirlenmiştir.

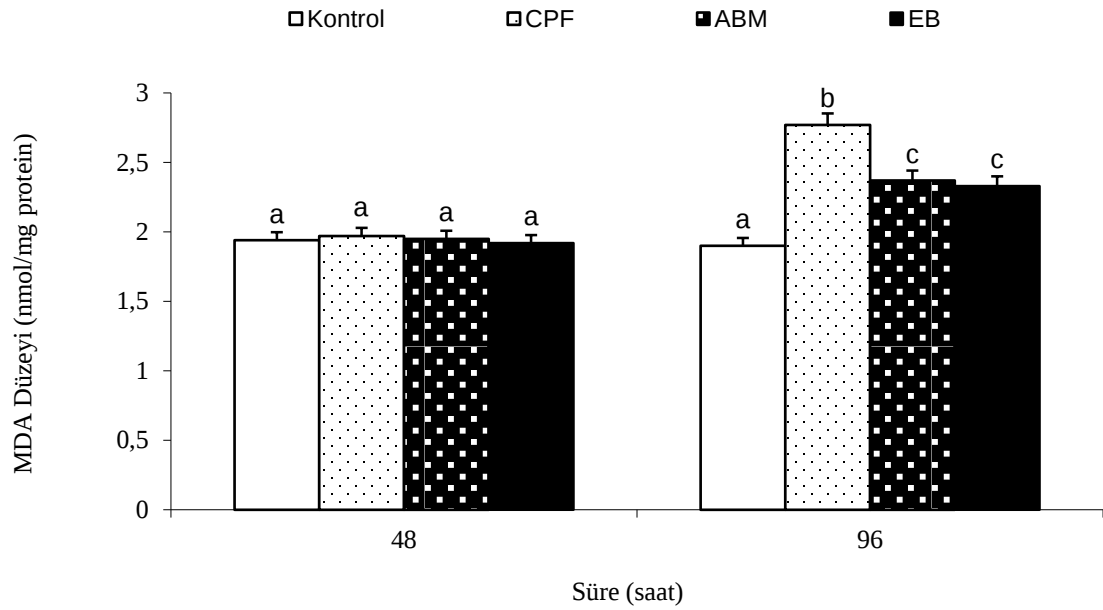


Şekil 4.23. Emamectin benzoatın belirli bir ortam derişiminde etkide kalma süresinin *O. niloticus*'un karaciğer dokusu MDA düzeyi üzerine etkisi. “#” işareti aynı derişimde süreler arasındaki istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P<0.05$).

Belirli bir sürede ve aynı ortam derişiminde *O. niloticus*'un karaciğer MDA düzeyi üzerine CPF, ABM ve EB etkileri Şekil 4.24 ve 4.25'te gösterilmiştir. 5.0 ppb ortam derişiminde MDA düzeyi her iki etkileşim süre sonunda da denenen tüm pestisitlerde önemli bir değişim göstermemiştir ($P>0.05$) (Şekil 4.24). 10.0 ppb ortam derişiminde ise, MDA düzeyi son etkileşim süresi sonunda denenen tüm pestisitlerde anlamlı olacak şekilde bir artış göstermiştir ($P<0.05$) (Şekil 4.25). 96 saatlik süre sonunda ve yüksek ortam derişiminde CPF istatistiksel olarak ABM ve EB etkisine göre MDA düzeyini daha çok artırmıştır ($P<0.05$). MDA düzeyi üzerine pestisitlerin neden olduğu artışların genel olarak CPF > ABM > EB şeklinde olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.24. 5.0 ppb pestisit ortam derişiminin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki MDA düzeyi üzerine etkisi. Aynı harfle gösterilen veriler arasında istatistiksel ayırım yoktur ($P>0.05$).



Şekil 4.25. 10.0 ppb pestisit ortam derişiminin *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki MDA düzeyi üzerine etkisi. Aynı etkileşim süresindeki pestisitler arasındaki enzim aktivitelerinin ayırımını göstermek için a, b ve c harfleri kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasında istatistiksel bir ayırım olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Sunulan araştırmada chlorpyrifos, abamectin ve emamectin benzoatın 10 ppb ortam derişimlerinde ve deneylerin sona erdirildiğı 96 saatlik süre sonunda balıklarda ölüm gözlenmemiştir. Balıkların pestisitlerin bulunduğu ortamlarda hayatlarını sürdürebilmeleri, bu kimyasalları detoksifiye etme ve antioksidan savunma yetenekleri ve kapasiteleri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Pestisitler balıkların hücresel yapılarında önemli değışikliklere neden olmasına rağmen moleküler ve hücresel düzeydeki koruyucu mekanizmalar toksikantların neden olduğu kimyasal strese adaptasyonda önemli roller oynamaktadır. İncelenen pestisitlerin etkisinde *O. niloticus*'ta mortalite gözlenmemesi karaciğer, böbrek ve solungaç gibi dokulardaki gelişmiş ve etkili bir detoksifikasyon mekanizmasının sonucu olabilir. Benzer şekilde 96 saat süreyle 0.4 mg/L glyphosate türü pestisitinin etkisinde *Rhamdia quelen*'de (Gluszczak vd. 2007) ve 0.2 mg/L organofosfor pestisit diazinon etkisinde 28 günlük süre sonunda *Oncorhynchus mykiss*'te (Banaee vd. 2011) ölüm gözlenmemiştir.

Yetiştiriciliğı kolay ve insanların ekonomik olarak da önemli bir besin kaynağını oluşturan Nil tilapyası *Oreochromis niloticus* kirleticilere dirençli bir tür olmasına rağmen pestisitleri de içeren çeşitli toksikantların subletal ya da kronik etkileşimlerinde oluşan kimyasal stresten etkilenmektedir. *O. niloticus*, Dünya'da geniş bir yayılım gösteren tatlı su balığı olup oldukça kirli habitatlarda yaşamını sürdürebilmesi, toksikantların etkilerine karşı dirençli olması gibi nedenlerle çevresel kirliliğın biyolojik indikatörü olarak ekotoksikolojik çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır (Carvalho vd. 2012).

Balıkların karaciğerlerindeki savunma mekanizmalarını ve kirleticilerin zararlı etkilerine karşı oluşan yanıt mekanizmalarını çalışmak sucul ortamlardaki kirleticilerin etkilerini değıerlendirmek açısından önemlidir. Karaciğer, kirleticilerin birikimi, detoksifikasyonu ve atılımı gibi çok çeşitli önemli rolleri olan ve sahip olduğu etkin mekanizmaları ile toksikantların neden olduğu kimyasal strese karşı ciddi yanıtlar oluşturabilen bir dokudur. Sunulan çalışmada karaciğer dokusu, pestisitlerin degradasyonu ve biyoaktivasyonundaki önemli rolleri ve oksidatif strese neden olan ROT'ların eliminasyonunda görevli antioksidanların bu dokuda yüksek düzeylerde bulunması dikkate alınarak hedef doku olarak seçilmiştir.

Doğal akuatik ortamların kimyasal bileşimdeki değişiklikler tatlı su canlılarını özellikle de balıkları olumsuz etkileyebilmektedir. Son yıllarda çok sayıda yeni tarımsal ve endüstriyel kimyasalların geliştirilmesi ve bu kimyasalların aşırı kullanımı çevrede özellikle de akuatik ekosistemlerde kalıcılıklarına ve toksisitelerine bağlı olarak önemli hasarlara neden olmaktadır (Woo vd. 2009). Bu kimyasalların önemli bir grubunu oluşturan pestisitler çeşitli kaynaklardan su ekosistemlerine girmekte ve ciddi akuatik kontaminasyonlara neden olmaktadır. Bu ortamlarda bulunan organizmalar da pestisitleri vücutlarına almakta ve savunma ve adaptasyon mekanizmaları ile bu kirleticilerin neden olduğu kimyasal strese yanıt oluşturmaktadırlar. Tarımsal kimyasallar spesifik organizmalara karşı seçici toksisiteye sahip olmasına rağmen insanları da içeren diğer organizmalara karşı derişimlerine ve etki sürelerine bağlı olarak toksik etkiler oluşturmaktadırlar (Woo vd. 2009).

Pestisitlerin tarımsal amaçlar için geniş bir şekilde kullanılması, besin zincirinin önemli bir halkası olan balıklar gibi hedef olmayan organizmalarda biyokimyasal, moleküler ve hücresel düzeyde ciddi hasarlara neden olabilmektedir. Pestisit etkileşimine bağlı olarak balıklardaki biyolojik sistemler olumsuz etkilenmektedir. Balıklar bu kirleticileri solungaç yüzeyleri aracılığıyla doğrudan alabildikleri gibi ekosistemdeki besin zinciri yoluyla dolaylı olarak da almaktadırlar. Biyolojik sistemlerdeki toksikantların neden olduğu değişiklikleri gösteren biyobelirteçler çevresel kirliliğinin nedenleri ve etkileri arasındaki ilişkiyi gösterir ve ekosistemin sağlığı ve balıklardaki olası patolojik prosesler hakkında önemli bilgiler verir (Maria vd. 2009). Biyokimyasal parametrelerin analizi hayvanların genel sağlık durumları kadar hedef organ toksisitesinin belirlenmesine de yardımcı olabilmektedir. Bu da çevresel kirleticilerin etkisindeki organizmalarda erken uyarıcı sistemler olarak rol oynayabilmektedir (Folmar 1993). Çoğu çevresel kirleticiler balıkları da içeren akuatik organizmalarda oksidatif stresi oluşturma yeteneğine sahiptirler.

Aerobik organizmalar, oksidatif metabolizmanın bir sonucu olarak süperoksit anyon radikali, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit gibi ROT'ları üretmektedirler. Pestisitler oksidatif strese neden olan ROT'ların üretimini arttırmaktadır. ROT artışına ve antioksidan savunmadaki başarısızlığa bağlı olarak oluşan oksidatif stres, pestisitleri de içeren çoğu lipofilik karakterli ksenobiyotiklerin toksik mekanizması olarak oluşabilmektedir (Regoli vd. 2002). Kirleticilerin etkisinde balıklarda oluşan bu stres

enzim inaktivasyonuna, lipid peroksidasyonuna ve DNA hasarına yol açabilmektedir. ROT'ların potansiyel tehlikelerine rağmen hücreler, serbest radikallerin zararlı etkilerini nötralize etmek için çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bu mekanizmaların en başında antioksidan savunma sistemleri gelmektedir. CAT, SOD ve GR gibi antioksidan savunmalar, ROT'ların neden olduğu toksisite ile mücadelede oldukça önemlidir. Normal koşullarda bu antioksidan enzimler, hücreleri ve dokuları oksidatif hasardan korurlar. Yine GSH da oksidatif strese karşı hücreyel savunma merkezi bir rol oynamaktadır. Hücreyel antioksidan savunmalardaki değişiklikler kirleticilerin etkileşimini ve/veya toksik etkilerini gösterdiğinden bu sistemler akuatik ekosistemlerin izlenmesinde yararlı biyobelirteçler olarak kullanılmaktadır (Almeida vd. 2007). Sunulan çalışmada CPF, ABM ve EB etkisinde *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki CAT, SOD ve GR aktiviteleri ile GSH düzeyinde pestisit, ortam derişimi ve etki süresine bağılı olarak önemli değışimlerin meydana geldiğı belirlenmiştir. Antioksidan enzimler prooksidan koşullarda çeşitli çevresel kirleticiler tarafından indüklenmektedir. Başlangıçta aktiviteleri oksidatif stresle mücadele etmek için artarken uzun süreli etkileşimler aktivitelerin azalmasına ve bu da temel biyolojik moleküllerde oksidatif hasarın oluşmasına neden olmaktadır (Bebianno vd. 2005). Çeşitli pestisitlerin etkisinde organizmalarda antioksidan sistem yanıtlarının (aktivite veya düzeylerindeki azalış/artışlar), etkide kalınan süreye, derişime, çalışılan türlere ve pestisitlere bağılı olarak değıştiğı rapor edilmiştir (Verma vd. 2007, Sharbidre vd. 2011, Abdel-Daim vd. 2015, Nasr vd. 2015, Xing vd. 2015).

CAT, yapısında demir atomları içeren bir hemoproteindir, esas fonksiyonu hidrojen peroksiti su ve oksijene dönüştürmektir. Çoğı hayvan türlerinde genellikle biyobelirteç bir enzim olarak kullanılmaktadır (Regoli vd. 2002, Sharbidre vd. 2011). CAT'ın biyolojik önemi ROT'ların toksik bir formu ve oldukça reaktif olan hidroksil radikalının esas hücreyel kaynağı olan H_2O_2 'nin elimine edilmesidir. H_2O_2 'nin uzaklaştırılması oksidatif strese karşı akuatik organizmaların önemli bir stratejisidir (Regoli vd. 2002). CAT akuatik organizmaların redoks durumlarının biyolojik etkilerin açığı çıkarılmasında SOD'a göre oksidatif stresin daha önemli ve daha duyarlı bir biyobelirteçi olarak ifade edilmektedir (Regoli vd. 2002).

CAT'ın artan aktiviteleri çeşitli balıklarda rapor edilmesine karşın CAT inhibisyonu akut kirliliğı geçici bir yanıt olarak önerilmektedir (Regoli ve Principato,

1995). Çalışılan pestisitlerin etkileri dikkate alındığında CAT aktivitesi, CPF etkisinde 48 saatlik süre sonunda artış, 96 saatlik süre sonunda ise bir azalış göstermiştir. ABM etkisinde her iki sürede ve yüksek ortam derişimlerinde CAT aktivitesi azalmıştır. EB'nin yüksek ortam derişiminde ve ilk etkileşim süresi sonunda ise CAT aktivitesi artış göstermiştir. CAT aktivitesinde gözlenen artış H_2O_2 'ye karşı hücreleri koruma da önemli bir rol oynadığı, CAT aktivitesindeki azalışların ise yüksek üretim durumlarında enzim aktivitesini inhibe ettiği belirlenen (Kono ve Fridovich 1982) süperoksit anyon radikaliyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Antioksidan sistemlerin indüklenmesi organizmaların adaptasyonunu gösterebilir (Sharbidre vd. 2011). Antioksidan enzimler, oksidatif stres durumlarında indüklenmektedir ki böyle indüksiyonlar ksenobiyotiklerin neden olduğu strese önemli bir adaptasyon sağlayabilmektedir. CPF etkisinde *Poecilia reticulata*'nın karaciğerinde CAT aktivitesinde artışlar belirlenmiştir (Sharbidre vd. 2011). Endosulfan etkisinde *Carassius carassius*'ta CAT aktivitesinde başlangıçta bir artış, etkide kalma süresinin uzamasıyla bir azalış rapor edilmiştir (Dar vd. 2015). Araştırmacılar CAT aktivitesindeki artışın H_2O_2 'ye bir yanıt olarak oluştuğunu belirtirken; yüksek konsantrasyonlarda CAT aktivitesindeki azalışların CAT aktivitesini inhibe ettiği rapor edilen (Ballesteros vd. 2009) süperoksit radikallerinin artan düzeyleriyle ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir. Rat karaciğerindeki CAT aktivitesinin organofosfor insektisit olan chlorfenvinphos etkisinde 24 saatlik süre sonunda artarken; 48 saatlik süre sonunda azaldığı belirlenmiştir (Lukaszewicz-Hussain 2001). Araştırmacılar CAT aktivitesindeki azalışın hidrojen peroksite karşı hücrelerin koruma yeteneğindeki bir azalışı göstereceğini belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada da CPF, ABM ve bu pestisitlerin birlikte etkisinde sıçan dokularında CAT aktivitesi önemli düzeyde azalış göstermiştir (Nasr vd. 2015).

Araştırmamızda bulduğumuz sonuçlara benzer olarak pestisitlerin etkisinde farklı balık türlerinde CAT enzim aktivitesinde artış/azalışlar rapor edilmiştir. *O. mykiss*'te endosulfanın düşük konsantrasyonlarında CAT aktivitesinde artış, yüksek konsantrasyonlarında ise azalış belirlenmiştir (Alves vd. 2002). Keramati vd. (2010), diazinon etkisinde *Rutilus rutilus* balıklarında CAT aktivitesinde azalış ve artış belirlemişlerdir. 20.49 mg/L organofosfor pestisit monocrotophos, 96 saatlik etki süresi sonunda *Gambusia affinis*'te CAT aktivitesinde %123'lük bir artışa neden olmuştur (Kavitha ve Venkateswara Rao 2007). Endosulfan etkisinde *Jenynsia multidentata*'nın

karaciğer dokusunda CAT aktivitesinde önemli azalışlar belirlenmiştir (Ballesteros vd. 2009). Araştırmacılar antioksidan enzim aktivitelerinin kimyasal stresin yoğunluğuna ve etki süresine ve de etki altındaki türlerin duyarlılığına bağlı olarak azalacağını ya da artabileceğini belirtmişlerdir. Benzer şekilde CPF etkileşimi *P. fossilis*'in beyin, karaciğer ve solungaç dokularında CAT enzim aktivitelerinde anlamlı azalışlara neden olmuştur (Tripathi ve Shasmal 2010).

SOD, antioksidan savunma hattının önemli bir enzimidir. SOD, süperoksit anyon radikalini hidrojen peroksite dismutasyonunu katalizleyerek oksidatif hasara karşı koruyucu bir rolü olan metaloenzimlerin bir grubudur (Fridovich 1995). Hem sitozol, hem de mitokondrilerde bulunan bu enzim süperoksit radikallerini etkisizleştirerek, hücresel bileşenleri bu radikalın zararlı etkilerinden korur. SOD enzim aktivitesinin indüklenmesi oksidatif strese karşı ilk savunma mekanizması olarak düşünüldüğünden balıklar için çok önemlidir (Sharbidre vd. 2011). Genel olarak SOD aktivitesi toksikantların düşük düzeyli etkilerinde artış eğilimi gösterirken toksikantların şiddetli etkisinde ise aktiviteleri azalabilmektedir ki bu antioksidan savunmada bir başarısızlığa ve bunun sonucu da organizmada oksidatif hasara yol açan aşırı ROT birikimine neden olabileceği belirtilmektedir (Liesivuori ve Savolainen 1991).

Sunulan çalışmada SOD aktivitesi CPF, ABM ve EB'nin etkisinde her iki etki süresinde de azalış göstermiştir. Denenen tüm pestisitlerin etkisinde SOD aktivitesinde gözlenen azalışlar, süperoksit radikallerine karşı hücrelerin koruma kabiliyetindeki bir azalışı ve bunun sonucunda da hücresel yapıların bu radikalın etkilerine karşı daha duyarlı hale gelmesini gösterebilir. Calviello vd. (2006), serbest radikallerin uzaklaştırılması mekanizmasına katılan SOD enzim aktivitesinin inhibisyonu, süperoksit radikalının hücre içi birikimine yol açacağını ve bunun da lipid peroksidasyonuna, DNA'da değişikliklere ve hücre ölümlerine neden olabileceğini belirtmişlerdir. Antioksidan enzim aktivitesindeki düşüş, pestisitlerin indüklediği ROT üretiminin enzim üzerine doğrudan etkisinin, enzim substratının azalmasının ya da transkript ve translasyon proseslerinin zarar görmesinin bir sonucu olabileceği ifade edilmektedir (Yonar ve Sakin 2011). Deltametrin etkisinde *C. carpio*'da SOD aktivitesi anlamlı bir azalış göstermiştir (Yonar ve Sakin 2011). Araştırmacılar SOD aktivitesinde görülen bu azalışın deltametrin etkileşiminin neden olduğu oksidatif stresle açıklanabileceğini ve bunun deltametrinin önemli hücresel toksisitesini gösterdiğini

belirtmişlerdir. Literatürlerde de rapor edildiği gibi SOD aktivitesindeki azalış, aşırı süperoksit radikal üretiminin bir sonucu olabileceği gibi pestisitlerin enzim sentezi üzerine olan doğrudan etkilerinin bir sonucu da olabilir (Bagnasco vd. 1991). Dimitrova vd. (1994) süperoksit radikalın kendisi ya da H_2O_2 transformasyonu SOD'deki sisteinin oksidasyonuna yol açabileceğini, bunun da enzim aktivitesinde düşüslere neden olabileceğini ifade etmişlerdir.

Antioksidan savunma sistemlerinde rol oynayan enzimler substratları olan oksidanların yüksek miktarları etkisinde inhibe edilebilmektedirler (Sakuragui vd. 2013). Bu nedenle SOD, detoksifikasyon süreçlerindeki süperoksit anyonunun aşırı üretimi ile inhibe edilebilir ki bu yapısındaki sistein oksidasyonuna ve sonrada enzim deaktivasyonuna ve/veya H_2O_2 birikimine yol açar (Dimitrova vd. 1994). Önceki çalışmalarda pestisit etkisinde *Prochilodus lineatus*'un karaciğerinde geçici H_2O_2 birikimine bağlı olarak SOD aktivitesinin inhibe olduğu belirlenmiştir (Modesto ve Martinez 2010). Pestisitleri de içeren çevresel kirleticiler tarafından kirletilen akuatik ortamlardan alınan balıkların dokularındaki SOD inhibisyonunun yüksek süperoksit anyonu ve geçici H_2O_2 birikiminden kaynaklandığı belirtilmiştir (Sakuragui vd. 2013).

Yapılan çalışmalarda farklı pestisitlerin etkisinde çeşitli canlı gruplarında SOD enzim aktivitesinin azaldığı belirlenmiştir. 96 saat süre ile 297 $\mu g/L$ CPF etkisine bırakılan *G. affinis* türü balıklarda SOD aktivitesinde %71 düzeyinde inhibisyon saptanmıştır (Kavitha ve Venkateswara Rao 2008). Promethrin etkisinde *C. carpio*'nun solungaç dokusunda SOD aktivitesinin azaldığı belirlenmiştir (Stara vd. 2013). Araştırmacılar SOD aktivitesinin pestisitlerin etkisinde protein yapısının doğrudan hasarına bağlı olarak azaldığını belirtmişlerdir. Deltametrinin etkisinde *O. niloticus*'un karaciğer, böbrek ve solungaç dokularında SOD aktivitelerini azalttığı belirlenmiştir (Abdel-Daim vd. 2015). Endosulfan etkisinde *C. carassius*'ta SOD aktivitesi azalmıştır (Dar vd. 2015). *Physa acuta*'da 3.2, 9.6, 19.2 ve 24.4 $\mu g/L$ abamectin etkisinde 96 saatlik süre sonunda SOD aktivitesi azalış göstermiştir (Ma vd. 2014). Kaur vd. (2012) karbofuran etkisinde sıçanların böbrek dokusunda SOD aktivitesinin azaldığını belirlemişlerdir. CPF etkileşimi keza sıçanların incelenen tüm dokularında anlamlı olacak şekilde SOD aktivitesini inhibe etmiştir (Verma vd. 2007). El-Sheikh ve Galal (2015) bir avermectin insektisit olan EB'nin sıçanlarda SOD aktivitesini azalttığını belirtmişlerdir.

CAT ve SOD aktiviteleri birlikte ele alındığında araştırma sonuçlarımız, bu enzim aktivitelerindeki azalışların normal oksidatif proseslerin bozulduğunu ve antioksidan savunma sisteminin koruyucu etkinliğinin azaldığını gösterebilir. Yan vd. (2015), CAT ve SOD aktivitelerindeki inhibisyonların ROT'ların aşırı üretimine neden olarak balıklardaki antioksidan savunma sistemleri zaafa uğratacağını belirtmişlerdir. Azalan SOD ve CAT aktiviteleri, antioksidan sistem hasarını ve oksidatif dengenin bozulduğunu göstermektedir (Liu vd. 2015). İnsektisitlerin aşırı ROT üretimine neden olarak antioksidan enzim aktivitelerinde azalışlara neden olduğu rapor edilmiştir (Banerjee vd. 1999). Cheung vd. (2004) azalan SOD aktivitesinin, hidroksil radikalının üretimine ve sonrasında da CAT aktivitesinin inhibisyonuna neden olan süperoksit anyonlarının birikimine ve sonuçta da oksidatif strese neden olacağını belirtmişlerdir.

Enzimatik antioksidanlar balık hücrelerinin redoks durumlarının korunmasında gereklidir ve oksidatif strese karşı önemli bir savunma gösterirler. GR de oksidatif hasara karşı savunmanın ilk hattında rol oynayan diğer önemli bir antioksidan enzimdir (Cnubben vd. 2001). Hücrel redoks durumunun belirteci olarak kullanılan GSH/GSSG oranının korunması normal hücre metabolizmaları için gereklidir. GR bu oranın korunmasında esas sistemdir. GR, NADPH'a bağımlı reaksiyonla GSSG'nin GSH'a indirgenmesini katalizleyerek oksidatif hasara karşı hücreleri koruyucu bir rol oynamaktadır. GR aktivitesi, pestisit etkisinde ROT oluşumunun düzenlenmesinde etkin bir şekilde rol oynamaktadır (Meng vd. 2014). Bu nedenle GR aktivitesinin oksidatif stresin potansiyel biyokimyasal belirteci olabileceği önerilmektedir (Cazenave vd. 2006).

Balıklardaki GR aktivitesinin kirleticilerin etkileşim dozuna ve süresine bağlı olarak değiştiği belirtilmektedir (Meng vd. 2014). Sunulan çalışmada GR aktivitesinin CPF, ABM ve EB'nin etkisinde 96 saatlik süre sonunda özellikle de yüksek ortam derişimlerinde *O. niloticus*'un karaciğerinde azaldığı belirlenmiştir. GR enzim aktivitesindeki azalışlar pestisitlerin toksik etkilerinin bir sonucu olabilir. Enzim aktivitelerinin pestisit ya da metabolitlerinin enzim molekülüne bağlanması ya da enzim sentezini ve/veya yapısını etkilemesine bağlı olarak azalabileceği belirtilmektedir (Hai vd. 1997). Çalışmamızla benzer olarak GR aktivitesinde bir azalış 30 gün süre ile 200 µg/L methomil etkisindeki *O. niloticus*'un karaciğerinde rapor edilmiştir (Meng vd. 2014). Araştırmacılar yüksek dozlardaki methomilin balıklar tarafından tamamen

metabolize edilmediğini ve bunun sonucunda pestisitlerin karaciğerde biriktiğini, enzimlerin protein yapılarını değiştirerek GR aktivitesini azalttığını belirtmişlerdir. 96 saat süre ile CPF etkisine bırakılan *G. affinis*'te GR aktivitesinde %65 düzeyinde bir azalış belirlenmiştir (Kavitha ve Venkateswara Rao 2008). Başka bir çalışmada da 0.02, 0.2 ve 2.0 µg/L terbutrin etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer ve bağırsak dokularında GR aktivitesi azalış göstermiştir (Velisek vd. 2011). Endosülfan ve lambda – cyhalothrin karışımlarının etkisine 96 saat süre ile bırakılan *Piaractus mesopotamicus* türü balıklarda GR aktivitesi azalmıştır (Bacchetta vd. 2014). Yine GR enzim aktivitesindeki bir azalış, organofosfat ve karbamat türü insektisitlerin tek başına ya da birlikte etkisinde *C. auratus*'ta belirlemiştir (Wang vd. 2009).

GSH ökaryotik hücrelerde antioksidan savunmada gerekli bir moleküldür. GSH hücre içi indirgeyici, serbest radikal temizleyicisi ve GSH ile ilişkili enzimlerin substratı ya da kofaktörü olduğundan ROT'ların neden olduğu oksidatif hasara karşı savunmada önemlidir (Verma vd. 2007). GSH, balıklarda birçok hücresel proseslere katılan oldukça da bol bulunan nonprotein bir tiyol olup toksikantların neden olduğu kimyasal strese karşı hücreleri koruyan önemli bir antioksidandır (Sinhorn vd. 2014). Balıklardaki ksenobiyotik ve diğer metabolitlerin detoksifikasyonunda rol oynayan GPx ve GST aktiviteleri için oldukça önemlidir. Bu nedenle GSH düzeyindeki değişiklikler çevresel stresin potansiyel biyobelirteçleri olarak düşünülmektedir (Meng vd. 2014).

GSH yapısında sistein rezidüsü bulunan tripeptid non-enzimatik bir antioksidandır ve detoksifikasyon ve antioksidan savunmalarda önemli roller oynamaktadır. Toksikantların indüklediği oksidatif strese karşı GSH'ın koruyucu ve adaptif rolleri akuatik organizmalarda iyi betimlenmiştir (Regoli ve Principato 1995). Bununla birlikte şiddetli oksidatif stres altında GSH düzeyleri GSH'ın GSSG'ye oksidasyonuna ve telafi edici mekanizmalardaki hasara bağlı olarak azalabilmektedir (El-Sharkawy vd. 1994). Sunulan araştırmada *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki GSH düzeyi, CPF etkisinde 48 saatlik süre sonunda artarken 96 saatlik süre sonunda azalmıştır. İlk etkileşim süresi sonunda artan GSH düzeyinin CPF etkisine bir adaptasyon yanıtı olarak oluştuğu ancak sürenin uzamasıyla artan oksidatif strese bağlı olarak GSH düzeylerinin azalmış olabileceği düşünülmektedir. Benzer şekilde endosülfan etkisinde *C. carassius*'ta etkileşim süresinin başlangıcında GSH düzeyinde bir artış bununla birlikte etki süresinin artmasına bağlı olarak GSH düzeyinde bir azalış

belirlenmiştir (Dar vd. 2015). Araştırmacılar büyük bir olasılıkla GSH düzeyindeki artışın pestisitlerin etkisinde balıklarda koruyucu bir yanıt olarak oluşturduğunu; GSH düzeyindeki azalışların ise endosulfan etkisinde oluşan ROT üretimine bağlı olarak meydana gelen oksidatif stresle mücadele edebilmek için bu tripeptidin hücrel kullanımlarının bir sonucu olarak meydana geldiğini rapor etmişlerdir. 40 gün süre ile 2,4-diclorofenol etkisindeki *C. auratus*'un karaciğer dokusunda GSH düzeylerinin arttığı belirlenmiştir (Zhang vd. 2004). Yine simazinin akut etkisinde balıklarda GSH düzeyinin arttığı belirlenmiştir (Oropesa vd. 2009). Doyotte vd. (1997), GSH düzeyindeki bir artışın kirleticilere bir adaptif yanıt olarak oluştuğunu ve bunun da hücrel homeostazinin sürdürülmesinde ve korunmasında kritik bir rol oynadığını belirtmişlerdir. Normal fizyolojik durumlarda hücrelerin GSH düzeyleri sentez ve kullanımı arasındaki denge ile korunur ama aşırı ROT üretimi bu dengeyi bozabilir ve bu da oksidatif strese neden olarak GSH düzeylerini baskılayabilir (Li vd. 2010). Organofosforlu pestisitlerin GST tarafından detoksifikasyon aşamalarında GSH ile konjugasyonu, bu pestisitlerin neden olduğu GSH düzeyindeki azalmaların olası nedenlerinden biridir (El-Sharkawy vd. 1994).

ABM ve EM'nin etkisinde ise 96 saatlik süre sonunda ve yüksek ortam derişiminde GSH düzeyinde azalış saptanmıştır. GSH düzeyindeki azalışlar pestisitlerin toksik etkilerinin bir sonucu olabilir. Methomil etkisinde *O. niloticus*'un karaciğerinde özellikle de yüksek ortam konsatrasyonlarında GSH düzeyinde önemli bir azalış gözlenmiştir (Meng vd. 2014). Araştırmacılar GSH düzeylerindeki azalışların GSH ile methomilin konjugasyonuna ve GSH'ın GSSG'ye oksidasyonuna bağlı olarak açıklanabileceğini belirtmişlerdir. Li vd. (2010), pestisit stresi altında adaptif mekanizmaların kaybı ve GSH sentezinin bozulmasına bağlı olarak da GSH düzeylerinin azalabileceğini ifade etmişlerdir. Yildirim vd. (2011) da balıkların dokularındaki azalan GSH düzeylerinin, kirleticilerin etkisinde okside glutatyona dönüşmesine bağlı olarak artan GSH kullanımının ya da yeni GSH moleküllerinin sentezlenmesindeki bir yetersizliğin sonucu olabileceğini belirtmişlerdir.

GSH bir oksiradikal temizleyicidir. Aynı zaman da elektrofilik bileşiklerin konjugasyonunda kullanılmaktadır. Bu nedenle GSH düzeyindeki değişiklikler organizmaların detoksifikasyon yeteneklerinin belirteçleri olarak kullanılmaktadır (Richardson vd. 2008). Azalan GSH düzeyleri, hücrelerin koruma yeteneklerindeki

azalışlara bağılı olarak ciddi bir durumu gösterebilir. GSH düzeyindeki azalışlar, artan bir oksidatif stres riskini gösterebilir (Luo vd. 2005). Zhang vd. (2004) şiddetli bir oksidatif stresin adaptif mekanizmaları bozmasına bağılı olarak GSH düzeylerini baskılayacağını belirtmişlerdir. Bu nedenle sunulan çalışmada GSH düzeyinin azalması, pestisitlere karşı hücrelerin koruyucu yeteneklerindeki bir azalmayı gösterebilir. Ziron ve Shijun (2007) GSH'ın başlangıçta oksidatif strese karşı hızlı bir koruma sağladığını fakat oksidatif stresin şiddetlenmesi durumunda düzeylerinin azaldığını belirtmişlerdir. GSH düzeyindeki azalışların pestisit etkisindeki balıkların dokularındaki antioksidan savunma sistemlerdeki bir başarısızlığı gösterebileceği vurgulanmıştır (Yonar ve Sakin 2011).

Önceki çalışmalarda çeşitli pestisitlerin etkisinde farklı canlı gruplarında GSH düzeylerinde önemli değişikliklerin olduğu rapor edilmiştir. 2,4-diclorofenol etkisinde *C. auratus*'ta karaciğer GSH düzeyinde bir azalış belirlenmiştir (Li vd. 2007). Metil-parathion ve CPF etkisinde *P. reticulata*'nın karaciğer GSH düzeyleri azalış göstermiştir (Sharbidre vd. 2011). Deltametrinin subakut etkileşimini takiben *O. niloticus*'un karaciğer, böbrek ve solungaç dokularında GSH düzeylerinin azaldığı belirlenmiştir (Abdel-Daim vd. 2015). Triazophos etkisinde *C. auratus*'ta GSH düzeylerinin azaldığı rapor edilmiştir (Liu vd. 2015). Araştırmacılar pestisit GSH düzeylerini azaltmasına bağılı olarak balıkların serbest radikal hasarına daha duyarlı hale geldiğini belirtmişlerdir. CPF, ABM ve CPF + ABM etkisinde sıçanların böbrek ve beyin dokularında GSH düzeyinde azalışlar gözlenmiştir (Nasr vd. 2015). DDT türü pestisitler içeren kimyasalların etkisinde *C. auratus*'un karaciğerinde GSH düzeyleri anlamlı bir şekilde azalmıştır (Ji vd. 2012). Araştırmacılar GSH düzeyindeki azalışların, GSH'ın GST tarafından kirleticilerle konjugasyonuna bağılı olarak azalmış olabileceğini belirtmişlerdir. 2, 5, 10 ve 40 gün sürelerle 0.1 ppm 2,4-diclorophenol etkisinde GSH düzeyinde benzer bir azalış *C. auratus*'ta belirlenmiştir (Zhang vd. 2005). Deltametrin etkisinde *C. carpio*'nun böbrek dokusunda GSH düzeyi artmıştır, bu da deltametrin tarafından oluşturulan oksidatif strese karşı bu dokuda koruyucu bir yanıt mekanizmasının oluştuğunu göstermektedir (Yonar ve Sakin 2011).

GSH ve GSH ile ilişkili enzimler (GR, GPx, GST) oksidatif strese karşı hücresel savunma mekanizmasında önemli bir rol oynamaktadır. GR, NADPH varlığında GSSG'yi GSH'a indirgeyerek hücre içi GSH düzeylerinin korunmasında işlevseldir

(Stara vd. 2012). Bu nedenle azalan GR aktivitesi, GSH düzeylerinin azalmasına neden olabilir (Elia vd. 2003). Sunulan araştırmada da büyük bir olasılıkla pestisitlerin etkisinde GR aktivitesindeki azalışların bir sonucu olarak, GSH düzeylerinin azaldığı düşünülmektedir. Benzer şekilde Zhang vd. (2004) de azalan GR aktivitesi eğer GSH'ın kaybı yeni GSH moleküllerinin sentezi ile karşılanmıyor ise GSH düzeylerinde bir azalışa neden olabileceğini belirtmişlerdir.

Lipid peroksidasyonu (LPO) pestisitler, metaller ve diğer ksenobiyotikler tarafından hücrel membran hasarının ilk basamağını oluşturur. LPO, hücrel yapıların oksidatif hasarının önemli bir belirteci olarak düşünülmektedir. Hücrel yapıların çoğu bileşenleri ve fonksiyonları oksidatif hasarın potansiyel hedefleridir ve oksidasyona en hassas yapılar hücre membranındaki çoklu doymamış yağ asitleri olup bunlar hızlı bir şekilde peroksidasyona uğrayabilirler (Yonar ve Sakin 2011). Serbest radikallerin ve ürünlerinin hücrelerdeki en önemli hasarlarından birisi membran lipidlerinin peroksidasyonudur (Ji vd. 2012). MDA bir lipid peroksidasyon ürünüdür. Dokulardaki MDA düzeylerindeki değişiklikler aşırı ROT üretimine bağlı olarak oluşan hücrel membran hasarını göstermektedir (Li vd. 2013). Bu nedenle MDA hücrel oksidatif hasarın bir belirteci olarak önerilmektedir (Ma vd. 2014).

Araştırmamızda *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki MDA düzeyinin CPF, ABM ve EM etkisinde 96 saatlik süre sonunda ve yüksek ortam derişiminde arttığı belirlenmiştir. MDA düzeylerindeki artışlar pestisitlerin balığın karaciğerinde lipid peroksidasyonuna yol açtığını göstermektedir. MDA, antioksidan savunmaların etkinliğini değerlendirmek için ölçülmektedir. Çalışmamızda pestisitlerin etkisinde karaciğer dokusundaki yüksek MDA düzeylerinin, belirgin bir oksidatif stres durumunu gösterdiği düşünülmektedir. Sinhorin vd. (2014) oksidatif hasarın doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olarak lipid hasarının bir belirteci olan MDA düzeylerini arttırdığını belirtmişlerdir. Sonuçlarımızla paralel olarak MDA düzeyinin CPF'nin akut etkileşimini takiben *G. affinis*'te arttığı rapor edilmiştir (Kavitha ve Venkateswara Rao 2008). Araştırmacılar artan lipid peroksidasyonunun ROT'ların toksik etkilerinin bir sonucu olduğunu ve bunun da CPF'nin esas toksik etkilerinden biri olabileceğini belirtmişlerdir. Yine deltamethrin etkisinde *C. carpio*'nun dokularında MDA düzeyinin arttığı ve bu artışın aşırı ROT üretimi ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Yonar ve Sakin 2011).

Birçok çalışmada pestisitlerin etkisinde balıkları da içeren çeşitli organizmalarda lipid peroksidasyonunun olduğu ve MDA düzeylerinin arttığı rapor edilmiştir. Dichlorovos etkisindeki *C. carpio* ve *Ictalurus nebulosus* balıklarında MDA düzeylerinin arttığı gözlenmiştir (Hai vd. 1997). Chlorpyrifos etkisine bırakılan sıçanların karaciğer, böbrek, dalak ve beyin dokularında MDA düzeyinde önemli artışlar saptanmıştır (Verma vd. 2007). 4.5 ve 7.5 mg/L glifosatın 96 saatlik süre sonunda *Pseudoplatystoma spp.* türü balıkların dokularında lipid peroksidasyonuna neden olduğu belirlenmiştir (Sinhorin vd. 2014). Debuconazola ve metil-paration etkisindeki *R. quelen*'in karaciğerinde lipid peroksidasyonunun olduğu rapor edilmiştir (Ferreira vd. 2010). 96 saatlik süre sonunda abamectin *P. acuta*'da MDA düzeyinde artışa neden olmuştur (Ma vd. 2014). CPF sıçanların karaciğer, böbrek, dalak ve beyinlerinde lipid peroksidasyon düzeylerinde artışlara neden olmuştur (Verma vd. 2007). Yine sıçanların karaciğerinde endosülfan fenitrothion ve abamectin etkisinde oksidatif strese bağlı olarak hücre membranlarının hasar gördüğü ve LPO'nun arttığı belirlenmiştir (Nasr vd. 2015).

SOD, CAT ve GSH, ROT'ların oksidatif saldırısıyla oluşabilecek lipid peroksidasyonuna karşı hücreleri koruyan en önemli antioksidanlardır; çünkü bunlar serbest radikal temizleyicisi ve indirgeyici ajan olarak davranmaktadırlar. Bu nedenle çalışmamızda balıkların karaciğerinde azalan SOD ve CAT aktivitesi ile GSH düzeylerine bağlı olarak ROT'ların toksik etkilerinin nötralize edilemediği ve bunun sonucunda da lipid peroksidasyonunun arttığı düşünülmektedir. Sharbidre vd. (2011) CPF ve metil-parathion etkisinde balıklarda meydana gelen lipid peroksidasyonunun, pestisitlerin oluşturduğu ROT'ların antioksidan enzimler tarafından yeterli olacak şekilde temizlenmemesinden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Balıklarda kirleticiler tarafından devamlı olarak ROT üretimi ve/veya antioksidan savunmalarındaki bir başarısızlığa bağlı olarak lipid peroksidasyonunun oluşabileceği ifade edilmiştir (Kehrer 1993). CPF etkisindeki *C. carpio*'nun dokularında CAT aktivitelerinde azalış, MDA düzeyinde artış gözlemlenmiştir (Ural 2013). Araştırmacılar dokulardaki lipid peroksidasyonunun CPF tarafından oluşturulan oksijen radikallerinin antioksidan enzimler tarafından tamamen uzaklaştırılmamasının sonucu olduğunu vurgulamışlardır. Yine deltametrin etkisinde *C. carpio*'nun karaciğer, solungaç ve

böbrek dokularında CAT ve SOD aktivitelerindeki azalışa bağlı olarak MDA düzeylerinin arttığı rapor edilmiştir (Yonar ve Sakin 2011).

Sonuç olarak araştırmamızda *O. niloticus*'un karaciğer dokusundaki oksidatif stres parametrelerinde CPF, ABM ve EB etkisinde önemli değişikliklerin olduğu belirlenmiştir. CAT, SOD ve GR aktiviteleri ile GSH ve MDA düzeylerindeki artış/azalışlar, pestisitlerin düşük ortam derişimlerine oranla yüksek ortam derişimlerinde daha fazla olmuştur. İncelenen tüm bu parametreler üzerine pestisitlerin etkilerinin ise genel olarak CPF > ABM > EB şeklinde olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde Nasr vd. (2015), chlorpyrifos ve abamectinin tek başına ve birlikte etkisinde sıçan dokuları üzerine toksik etkiler oluşturduğunu, CPF'nin ABM'ye göre lipid peroksidasyonu oluşturma ve antioksidan savunma sistemlerini baskılama gibi etkilerinin daha yüksek olduğunu ifade etmişlerdir. Kennedy vd. (2014) yaptıkları çalışmalarında avermectin türü pestisitler olan ivermectin ve emamectin benzoatın *O. mykiss*'teki çeşitli fizyolojik parametreler üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında EB'nin daha düşük bir toksik etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Akuatik ortamlar pestisitler için son alıcı ortamlar olduğundan bu ortamdaki bir pestisit kirliliği buradaki canlıları özellikle de balıkları olumsuz etkileyebilecektir. Antioksidan savunmanın baskılanması, serbest radikal üretimindeki artış ve oksidatif hasarın pestisitleri de içeren çeşitli ksenobiyotiklerin toksik etkilerinin bir sonucu olduğu bilinmektedir (Ozden vd. 2013). Sunulan çalışmada test edilen pestisitlerin *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda genel olarak CAT, SOD, GR enzim aktiviteleri ile GSH düzeylerini azalttığı ve MDA düzeylerini ise artırdığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar karaciğer dokusunun pestisitlerin toksik etkilerine oldukça duyarlı olduğunu göstermektedir. CPF, ABM ve EB'nin serbest radikalleri temizleyen enzim aktivitelerini ve GSH'ı baskılayarak ve/veya serbest radikalleri üreterek *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda oksidatif strese neden olduğu düşünülmektedir. Sonuç olarak test edilen pestisitlerin balıklar için toksik olduğu ve antioksidan parametreler ile lipid peroksidasyonunun bu pestisitlerin toksik etkilerinin biyobelirteci olarak kullanılabileceği vurgulanabilir.

KAYNAKLAR

- Abdel-Daim, M.M., Abdelkhalek, N.K.M. and Hassan, A.M., (2015). Antagonistic activity of dietary allicin against deltamethrin-induced oxidative damage in freshwater Nile tilapia; *Oreochromis niloticus*, Ecotoxicol. Environ. Saf., 111: 146–152.
- Abdel-Hafez, H.F. and Osman, H.H., (2013). Effects of pyridalyl and emamectin benzoate on some biological and biochemical parameters of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) and Albino rat, Egypt. Acad. J. biolog. Sci., 6(3): 59-68.
- Alak, G., Sönmez, A.Y. ve Hisar, O., (2011). Bazı pestisitlerin balıkların antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkileri, Atatürk Üniv. Zir. Fak. Derg., 42: 91-93.
- Ali, A., Xue, R.D. and Alam, S.K., (1997). Ecotoxicological effects of abamectin (MK-936) on natural populations of selected invertebrates in man-made ponds, Medical Entomology and Zoology, 48: 233–241.
- Almeida, M.G., Fanini, F., Davino, S.C., Aznar, A.E., Koch, O.R. and Barros, S.B.M., (1997). Pro- and anti-oxidant parameters in rat liver after short-term exposure to hexachlorobenzene, Hum. Exp. Toxicol., 16: 257–261.
- Almeida, E.A., Bainy, A.C.D., Loureiro, A.P.M., Martinez, G.R., Miyamoto, S., Onuki, J. and Barbosa, T., (2007). Oxidative stress in *Perna perna* and other bivalves as indicator of environmental stress in the Brazilian marine environment: Antioxidants, lipid peroxidation and DNA damage, Comparative Biochemistry and Physiology, 146A: 588–600.
- Alves, C., Severino, P.C., Ibbotson, D.P., Da Silva, A.Z., F., Lopes, R.A.S., Saens, L.A. and Bainy, A.C.D., (2002). Effects of furadan in the brown mussel *Perna perna* and in the angrove oyster *Crassostrea rhizophorae*, Marine Environmental Research, 54: 241–245.
- Amitai, G., Moorad, D., Adani, A. and Doctor, B.P., (1998). Inhibition of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase by chlorpyrifos-oxon, Biochemical Pharmacology, 56: 293–299.

- Anderson B., Hetrick, J., Doelling, P. and Spatz, D., (2009). Section 3 request for a new use of the insecticide emamectin benzoate (PC Code 122806), USEPA, Washington D.C.
- Ayaz, A. ve Yurttagül, M., (2012). Besinlerdeki Toksik Öğeler – II, Ankara.
- Bacchetta, C., Rossi, A., Ale, A., Campana, M., Parma, M.J. and Cazenave, J., (2014). Combined toxicological effects of pesticides: A fish multi-biomarker approach, *Ecological Indicators*, 36: 532– 538.
- Bagnasco, M., Camoirano, A., De Flora, S., Melodia, F. and Arillo, A., (1991). Enhanced liver metabolism of mutagens and carcinogens in fish living in polluted seawater, *Mutation Research*, 262: 129–137.
- Ballesteros, M.L., Wunderlin, D.A. and Bistoni, M.A., (2009). Oxidative stress responses in different organs of *Jenynsia multidentata* exposed to endosulfan, *Ecotoxicology Environmental Safety*, 72: 199–205.
- Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A.R. and Ahmadi, K., (2011). Effects of diazinon on biochemical parameters of blood in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Pestic. Biochem. Physiol.*, 99: 1–6.
- Banaee, M., (2013). Physiological dysfunction in fish after insecticides exposure. In: Stanislav Trdan, P. (Ed.), *Insecticides – Development of Safer and More Effective Technologies*. ISBN:978-953-51-0958-7.
- Banerjee, B.D., Seth V., Bhattacharya, A., Pasha, S.T. and Chakraborty, A.K., (1999). Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers, *Toxicol. Let.*, 107: 33–47.
- Banks, K.E., Hunter, D.H. and Wachal, D.J., (2005). Chlorpyrifos in surface waters before and after a federally mandated ban, *Environ. Int.*, 31: 351–356.
- Bebianno, M.J., Company, R., Serafim, A., Cosson, R.P. and Fiala-Medoni, A., (2005). Antioxidant systems and lipid peroxidation in *Bathy modiolusazoricus* from Mid-Atlantic Ridge hydrothermal vent fields, *Aquatic Toxicology*, 75: 354–373.
- Begum, G. and Vijayaraghavan, S., (1996). Alteration in the protein metabolism of muscle in the fish *Clarias batrachus* (Linn) by commercial grade dimethoate, *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*, 57: 223–228.
- Beutler, E.. (1975). Red cell metabolism: a manual of biochemical methods. 2nd. ed., Grune and Stratton Company, NewYork.

- Blomquist, J.R., (2001). GABA and glutamate receptors as biochemical sites for insecticide action, in "Biochemical Sites of Insecticide Action and Resistance" (I. Ishaaya, Ed.), pp. 17–41, Verlag, Berlin.
- Campbell, W.C., (1989). Ivermectin and Abamectin, Verlag, NewYork.
- Canyurt, M.A., (1994). Tarımda pestisit kullanımının su ürünleri üzerine etkileri, kıyı sorunları ve çevre sempozyumu, Kuşadası.
- Carlberg, I. and Mannervik, B., (1975). Purification and characterization of the flavoenzyme glutathione reductase from rat liver, J. Biol. Chem. 250: 5475-5480.
- Carvalho, C.D.S., Bernusso, V.A., Araújo, H.S.S., Espíndola, E.L.G. and Fernandes, M.N., (2012). Biomarker responses as indication of contaminant effects in *Oreochromis niloticus*, Chemosphere, 89: 60–69
- Calviello, G., Piccioni, E., Boninsegna, A., Tedesco, B., Maggiano, N., Serini, S., Wolf, F.I. and Palozza, P., (2006). DNA damage and apoptosis induction by thepesticide Mancozeb in rat cells: involvement of the oxidative mechanism. Toxicology and Applied Pharmacology, 211: 87–96.
- Casali-Pereira, M.P., Daam, M.A., Resende, J.C., Vasconcelos, A.M., Espíndola, E.L.G. and Botta, C.M.R., (2015). Toxicity of Vertimec 18 EC (active ingredient abamectin) to the neotropical cladoceran *Ceriodaphnia silvestrii*, Chemosphere 139: 558–564.
- Casida, J.E. and Quistad, G.B., (2004). Organophosphate toxicology: safety aspects of nonacetylcholinesterase secondary targets, Chemç. Res. Toxicol., 17: 983–998.
- Cavas, T. and Ergene-Gözükara, S., (2005). Micronucleus test in fish cells, a bioassay for in situ monitoring of genotoxic pollution in the marine environment, Environmental and Molecular Mutagenesis, 46: 64–70.
- Cazenave, J., Bistoni, M.D.A., Pesce, S.F. and Wunderlin, D.A., (2006). Differential detoxification and antioxidant response in diverse organs of *Corydoras paleatus* experimentally exposed to microcystin-RR, Aquatic Toxicology, 76: 1–12.
- Cheung, C.C.C., Siu, W.H.L., Richardson, B.J., De Luca-Abbott, S.B. and Lam, P.K.S., (2004). Antioxidant responses to benzo[a]pyrene and Aroclor 1254 exposure in the green-lipped mussel, *Perna viridis*, Environmental Pollution, 128: 393–403.

- Cnubben, N.H.P., Rietjens, I.M.C.M., Wortelboer, H., Zenden, J. and Bladeren, P.J., (2001). The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10: 141–152.
- Dam, K., Garcia, S.J., Seidler, F.J. and Slotkin, T.A., (1998). Developmental neurotoxicity of chlorpyrifos: delayed targeting of DNA synthesis after repeated administration, *Developmental Brain Research*, 108: 39–45.
- Dam, K., Garcia, S.J., Seidler, F.J. and Slotkin, T.A., (1999). Neonatal chlorpyrifos exposure alters synaptic development and neuronal activity in cholinergic and catecholaminergic pathways, *Developmental Brain Research*, 116: 9–20.
- Dar, S.A., Yousuf, A.R., Balkhi, M.H., Ganai, F.A. and Bhat, F.A., (2015). Assessment of endosulfan induced genotoxicity and mutagenicity manifested by oxidative stress pathways in freshwater cyprinid fish crucian carp (*Carassius carassius* L.), *Chemosphere*, 120: 273–283.
- Devraj, P., Selvarajan, V.R. and Durairaj, S., (1991). Relationship between acetylcholine esterase and monoamine oxidase in brain regions of *Oreochromis mossambicus* exposed to phoslane, *Indian Journal of Experimental Biology*, 29: 790–792.
- Dimitrova, M.S.T., Tsinova, V. and Velcheva, V., (1994). Combined effect of zinc and lead on the hepatic superoxide dismutase-catalase system in carp (*Cyprinus carpio*), *Comparative Biochemistry Physiology*, 108: 43–46.
- Doyotte, A., Cossu, C., Jacquin, M.C., Babut, M. and Vasseur, P., (1997). Antioxidant enzymes, glutathione and lipid peroxidation as relevant biomarkers of experimental or field exposure in the gills and the digestive gland of the freshwater bivalve *Unio tumidus*, *Aquat. Toxicol.*, 39: 93–110.
- Dubovskiy, I.M., Martemyanov, V.V., Vorontsova, Y.L., Rantala, M.J., Gryzanova, E.V. and Glupov, V.V., (2008). Effect of bacterial infection on antioxidant activity and lipid peroxidation in the midgut of *Galleria mellonella* L. larvae (Lepidoptera, Pyralidae), *Comp. Biochem. Physiol.*, 148: 1–5.
- Dutta, H.M. and Arends, D.A., (2003). Effects of endosulfan on brain acetylcholinesterase activity in juvenile bluegill sunfish, *Environmental Research*, 91: 157–162.

- Elia, A.C., Galarini, R., Taticchi, M.I., Dorr, A.J.M. and Mantilacci, L., (2003). Antioxidant responses and bioaccumulation in *Ictalurus melas* under mercury exposure, *Ecotoxicology Environmental Safety*, 55: 162–167.
- El-Sharkawy, A.M., Abdel-Rahman, S.Z., Hassan, A.A., Gabr, M.H., El-Zoghby, S.M. and El-Sewedy, S.M., (1994). Biochemical effects of some insecticides on the metabolic enzymes regulating glutathione metabolism, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 52: 505–510.
- El-Sheikh, E.A. and Galal, A.A.A., (2015) Toxic effects of sub-chronic exposure of male albino rats to emamectin benzoate and possible ameliorative role of *Foeniculum vulgare* essential oil, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 39: 1177–1188.
- Fazio, F., Faggio, C., Marafioti, S., Torre, A., Sanfilippo, M. and Piccione, G., (2013). Effect of water quality on hematological and biochemical parameters of *Gobius niger* caught in faro lake (Sicily), *Iranian J. Fisheries Sciences*, 12: 219–231.
- Ferreira, D., Motta, A.C., Kreutz, L.C., Toni, C., Loro, V.L. and Barcellos, L.J.G., (2010). Assessment of oxidative stress in *Rhamdia quelen* exposed to agrichemicals, *Chemosphere*, 79: 914–921.
- Foe, C., Deanovic, L. and Hinton, D., (1998). Toxicity identification evaluations of orchard dormant spray storm runoff. California Regional Water Quality Control Board, CA.
- Folmar, L.C., (1993). Effects of chemical contaminants on blood chemistry of teleost fish: a bibliography and synopsis of selected effects, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 12: 337–375.
- Freeman, B.A. and Crapo, J.D., (1981). Hyperoxia increases oxygen radical production in rat lungs and lung mitochondria, *J. Biological Chemistry*, 256: 10986–10992.
- Fridovich, I., (1995). Superoxide radical and superoxide dismutases, *An. Rev. Biochem.*, 64: 97–112.
- Fulton, M.H. and Key, P.B., (2001). Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 37–45.
- Gilliom, J. and Hamilton, A., (2006). Pesticides in the nation's streams and ground water.

- Gluszczak, L., dos Santos Miron, D., Moraes, B.S., Simões, R.R., Schetinger, M.R.C., Morsch, V.M. and Loro, V.L., (2007). Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*), *Comp. Biochem. Physiol.*, 146: 519–524.
- Hai, D.Q., Varga, S.I. and Matkovics, B., (1997). Organophosphate effects on antioxidant system of carp (*Cyprinus carpio*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*), *Comp. Biochem. Physiol.*, 117: 83–88.
- Halley, B.A., Vanden-Heuvel, W.J. and Wislocki, P.G., (1993). Environmental effects of the usage of avermectins in livestock, *Veterinary Parasitology*, 48: 109–125.
- Hoy, T., Horsberg, T.E. and Nafstad, I., (1990). The disposition of ivermectin in Atlantic salmon (*Salmo salar*), *Pharmacology Toxicology*, 67: 307–312.
- Inoue, K., Yoshimi, Y., Hino, T. and Oka, H., (2010). LC/ESI-MS/MS method for the simultaneous determination of macrocyclic lactone parasiticides in livestock products and fish, *J. Food Hygiene Society Japan*, 51: 1–9.
- Ioriatti, C., Anfora, G., Angeli, G., Civolani, S., Schmidt, S. and Pasqualini, E., (2009). Toxicity of emamectin benzoate to *Cydia pomonella* (L.) and *Cydia molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae): laboratory and field tests, *Pest Management Science*, 65: 306–12.
- İbrahim, A.A. and Harabawy, A.S.A., (2014). Sublethal toxicity of carbofuran on the African cat fish *Clarias gariepinus*: Hormonal, enzymatic and antioxidant responses, *Ecotox. Environ. Safe.*, 106: 33–39.
- Jansson, R.K., Brown, R., Cartwright, B., Cox, D., Dunbar, D.M. and Dybas, R.A., (1996). Emamectin benzoate: a novel avermectin derivative for control of lepidopterous pests, Malaysia.
- Jenčič, V., Černe, M., Eržen, N.K., Kobal, S. and Cerkvnik-Flajs, V., (2006). Abamectin effects on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Ecotoxicol.*, 15: 249–257.
- Ji, Y., Lu, G.H., Wang, C. and Zhang, J., (2012). Biochemical responses of freshwater fish *Carassius auratus* to polycyclic aromatic hydrocarbons and pesticides, *Water Sci. Eng.*, 5(2): 145–154.

- Johnson, S.C. and Margolis, L., (1993). Efficacy of ivermectin for control of the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* on Atlantic salmon, *Diseases Aquatic Organisms*, 17: 101–105.
- Kaur, B., Khera, A. and Sandhir, R., (2012). Attenuation of cellular antioxidant defense mechanisms in kidney of rats intoxicated with carbofuran, *J. Biochemical and Molecular Toxicology*, 26: 393–398.
- Kavitha, P. and Venkateswara Rao, J. (2007). Oxidative stress and locomotor behaviour response as biomarkers for assessing recovery status of mosquito fish, *Gambusia affinis* after lethal effect of an organophosphate pesticide, monocrotophos, *Pestic. Biochem. Physiol.*, 87: 182–188.
- Kavitha, P. and Venkateswara Rao, J., (2008). Toxic effects of chlorpyrifos on antioxidant enzymes and target enzyme acetylcholinesterase interaction in mosquito fish, *Gambusia affinis*, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 26: 192–198.
- Kaya, A.B., Serbes, D., Öztürk, D. ve Oruç, E., (2012). Lufenuron'un *Oreochromis niloticus*'ta oksidatif stres induksiyonu ve endokrin bozucu etkileri, *İzmir*.
- Kehrer, J., (1993). Free radicals as mediators of tissue injury and disease, *Crit. Rev. Tox.*, 23: 21-48.
- Kennedy, C.J., Tierney, K.B. and Mittelstadt, M., (2014). Inhibition of P-glycoprotein in the blood–brain barrier alters ivermectin neurotoxicity and swimming performance in rainbow trout, *Aquat. Toxicol.*, 146: 176– 185.
- Keramati, V., Jamili, S. and Ramin, M., (2010). Effect of diazinon on catalase antioxidant enzyme activity in liver tissue of *Rutilus rutilus*, *Fish Aquat. Sci.*, 5: 368–376.
- Kono, Y. and Fridovich, I., (1982) Superoxide radicals inhibit catalase, *J. Biological Chemistry*, 257: 5751-5754.
- Kumble, G.B., Muley, D.V. and Deshpande, V.V., (1999). Enzymatic changes due to pesticidal stress in freshwater fish *Sarotherodon mossambicus*, *Indian J. Environmental and Ecoplaning*, 2: 27–31.
- Kwong, T.C., (2002). Organophosphate pesticides: biochemistry and clinical toxicology, *Ther. Drug Monitoring*, 24: 144–149.
- Lackner, R., (1998). Oxidative stress in fish by environmental pollutants. In: Braunbeck T., Hinton D.E., Streit B., editors, *Basel*, 203 –224.

- Lankas, G.R. and Gordon, L.R., (1989). Toxicology. In: Campbell W.C. (ed) Ivermectin and abamectin, New York.
- Lartillot, S., Kadziora, P., Athios, A., 1988. Purification and characterization of new fungal catalase, Prep. Biochem., 18 (3): 241-246.
- Lee, R.F. and Steinert, S., (2003). Use of the single cell gel electrophoresis/comet assay for detecting DNA damage in aquatic (marine and freshwater) animals, Mutation Reserch, 544: 43–64.
- Leomanni, A., Schettino, T., Calisi, A., Gorbi, S., Mezzelani, M., Regoli, F. and Lionetto, M.G., (2015). Antioxidant and oxidative stress related responses in the Mediterranean land snail *Cantareus apertus* exposed to the carbamate pesticide Carbaryl, Comp. Biochem. Physiol., 168C: 20–27.
- Li, F., Ji, L., Luo, Y. and Oh, K., (2007). Hydroxyl radical generation and oxidative stress in *Carrassius auratus* liver as affected by 2,4,6- trichlorophenol, Chemosphre, 67: 13–19.
- Li, Z.H., Zlabek, V., Grabic, R., Li, P. and Randak, T., (2010). Modulation of glutathione-related antioxidant defense system of fish chronically treated by the fungicide propiconazole, Comp. Biochem. Physiol., 152C: 392–398.
- Li, X.Y., Zeng, S.H., Zhang, W.H., Liu, L., Ma, S. and Wang, J.J., (2013). Acute toxicity and superficial damage to goldfish from the ionic liquid 1-methyl-3-octylimidazolium bromide, Environ. Toxicol., 28: 207–214.
- Liesivuori, J. and Savolainen, H., (1991). Methanol and formic acid toxicity: biochemical mechanism, Pharmacology Toxicology, 69: 157–163.
- Liu, L., Zhu, B., Gong, Y.X., Liu, G.L. and Wang, G.X., (2015). Neurotoxic effect of triazophos on goldfish (*Carassius auratus*) and tissue specific antioxidant responses, Ecotox. Environ. Safe., 116: 68–75.
- Livingstone, D.R., (2001). Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms, Mar. Pol. Bul., 42: 656-666.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., (1951). Protein measurements with the folin phenol reagent, J. Biol. Chem., 193: 265-275.
- Lukaszewicz-Hussain, A., (2001). Organophosphate insecticide chlorfenvinphos affects superoxide dismutase, catalase and malondialdehyde in rat liver, Pol. J. Environ. Stud., 10: 279-282.

- Luo, Y., Wang, X.R., Shi, H.H., Mao, D.Q.Y.X. and Sui, L.L., (2005). Electron paramagnetic resonance investigation of in vivo free radical formation and oxidative stress induced by 2, 4-dichlorophenol in the freshwater fish *Carassius auratus*, *Enviro. Toxicol. Chem.*, 24: 2145–2153.
- Luo, L., Sun, Y.J. and Wu, Y.J., (2013). Abamectin resistance in *Drosophila* is related to increased expression of P-glycoprotein via the dEGFR and dAkt pathways, *Insect Biochem. Molecular Biology*, 43: 627–634.
- Ma, J., Zhou, C., Li, Y. and Li, X., (2014). Biochemical responses to the toxicity of the biocide abamectin on the fresh water snail *Physa acuta*, *Ecotox. Envir. Saf.*, 101: 31–35.
- Maria, V.L., Ahmad, I., Oliveira, M., Serafim, A., Bebianno, M.J., Pacheco, M. and Santos, M.A., (2009). Wild juvenile *Dicentrarchus labrax* L. liver antioxidant and damage responses at Aveiro Lagoon. Portugal, *Ecotox. Envir. Saf.*, 72: 1861–1870.
- Martysiak- Żurowska, D. and Wenta, W., (2012). A comparison of ABTS and DPPH methods for assessing the total antioxidant capacity of human milk, *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 11: 83-89.
- Matos, P., Fontainhas-Fernandes, A., Peixoto, F., Carrola, J. and Rocha E., (2007). Biochemical and histological hepatic changes of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to carbaryl, *Pestic. Bioch. Physiol.*, 89: 73–80.
- Meng, S.L., Chen, J.Z., Hu, G.D., Song, C., Fan, L.M., Qui, P.L. and Xu, P., (2014). Effects of chronic exposure of methomyl on the antioxidant system in liver of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Ecotox. Environ. Safe.*, 101: 1–6.
- Modesto, K.A. and Martinez, C.B.R., (2010). Roundup causes oxidative stress in liver and inhibits acetylcholinesterase in muscle and brain of the fish *Prochilodus lineatus*, *Chemosphre*, 78: 294-299.
- Morgan, E.R., and Brunson, M.W., (2002). Toxicities of agricultural pesticides to selected aquatic organism,. SRAC.
- Narra, M.R., Rajender, K., Reddy, R.R., Rao, J.V. and Begum, G., (2015). The role of vitamin C as antioxidant in protection of biochemical and haematological stress induced by chlorpyrifos in freshwater fish *Clarias batrachus*, *Chemospher*, 132: 172–178.

- Nasr, H.M., El-Demerdash, F.M. and El-Nagar, W.A., (2015). Neuro and renal toxicity induced by chlorpyrifos and abamectin in rats, *Environmental Science Pollution Research*, 1-8.
- Novelli, A., Vieira, B.H., Cordeiro, D., Cappelini, L.T.D., Vieira, E.M. and Espindola, E.L.G., (2012). Lethal effects of abamectin on the aquatic organisms *Daphnia similis*, *Chironomus xanthus* and *Danio rerio*, *Chemosphere*, 86: 36–40.
- Oropesa, A.L., Garcia-Cambers, J.P. and Soler, F., (2009). Glutathione and malondialdehyde levels in common carp after exposure to simazine, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 27: 30–38.
- Oruç, E.O., Sevgiler, Y. and Uner, N., (2004). Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2,4-D and azinphosmethyl, *Comparative Biochemistry Physiology*, 137C: 43–51.
- Ozden, S., Catalgol, B., Gezginci-Oktayoglu, S., Karatug, A., Bolkent, S. and Alpertunga, B., (2013). Acute effects of methiocarb on oxidative damage and the protective effects of vitamin E and taurine in the liver and kidney of Wistar rats, *Toxicology and Industrial Health*, 29: 60–71.
- Palma, P., Palma, V.L., Fernandes, R.M., Bohn, A., Soares, A.M.V.M. and Barbosa, I.R., (2009). Embryo-toxic effects of environmental concentrations of chlorpyrifos on the crustacean *Daphnia magna*, *Ecotox. Environ. Safe.*, 72: 1714–1718.
- Peña-Llopis, S., Peña, J.B., Sancho, E., Fernández-Vega, C., and Ferrando, M.D. (2001). Glutathione dependent resistance of the European eel *Anguilla anguilla* to the herbicide molinate, *Chemosphere*, 45(4-5): 671-681.
- Peixoto, F., Alves-Fernandes, D., Santos, D. and Fontainhasfernandes, A., (2006). Toxicological effects of oxyfluorfen on oxidative stress enzymes in Tilapia *Oreochromis niloticus*, *Pestic. Biochem. Physio.*, 85: 91-96.
- Pimentel, D., (1995). Amounts of pesticides reaching target pests: environmental impacts and ethics, *J. Agri. Envir. Eth.*, 8: 17–29.
- Pisochi, A.M. and Pop, A., (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review, *Eur. J. Med. Chem.*, 97: 55-74.
- Pridgeon, J.W., Becnel, J.J., Clark, G.G. and Linthicum, K.J., (2009). A high-throughput screening method to identify potential pesticides for mosquito control, *J. Medical Entomology*, 46: 335–341.

- Racke, K.D., Laskowski, D.A. and Schultz, M.R., (1990). Resistance of chlorpyrifos to enhanced biodegradation in soil, *J. Agriculture Food Chemistry*, 38: 1430–1436.
- Raftery, T.D. and Volz, D.C., (2015). Abamectin induces rapid and reversible hypoactivity within early zebrafish embryos, *Neurotoxicol. Teratol.*, 49: 10–18.
- Rana, S.V.S., Allen, T. and Singh, R., (2002). Inevitable glutathione, then and now, *Ind. Jour. Expt. Iol.*, 40: 706–716.
- Regoli, F. and Principato, G., (1995). Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metal under field and laboratory conditions: implications for the use of biochemical biomarkers, *Aquat. Toxic.*, 31: 143–164.
- Regoli, F., Gorbi, S., Frenzilli, G., Nigro, M., Corsi, I., Focardi, S. and Winston, G.W., (2002). Oxidative stress in ecotoxicology: from the analysis of individual antioxidants to a more integrated approach, *Mari. Envir.. Rese.*, 54: 419–423.
- Richardson, B.J., Mak, E., Luca-Abbott, S.B.D., Martin, M., McClellan, K. and Lam, P.K.S., (2008). Antioxidant responses to polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in green-lipped mussels (*Perna viridis*): Do mussels integrate biomarker responses, *Mari. Pol. Bul.*, 57: 503–514.
- Rugg D, Buckingham SD, Satelle DB, Jansson RK. (2010). The insecticidal macrocyclic lactones. *Insect pharmacology: channels, receptors, toxins and enzymes*, Elsevier BV; 69–86.
- Sakuragui, M.M., Paulino, M.G., Pereira, C.D.S., Carvalho, C.S., Sadauskas-Henrique, H. and Fernandes, M.N., (2013). Integrated use of antioxidant enzymes and oxidative damage in two fish species to assess pollution in man-made hydroelectric reservoirs, *Environ. Pol.*, 178: 41-51.
- Sanchez-Bayo, F., (2012). Insecticides mode of action in relation to their toxicity to non-target organisms, *J. Environmental and Analitical Toxicology*, 4: 2-5.
- Satyadevan, S., Kumar, S. and Tembhre, M., (1993). Acetylcholinesterase activity and enzyme kinetics in the brain of common carp *Cyprinus carpio* subjected to sublethal exposure to dimethoate, *Biosc. Biotec. Bioch.*, 57: 1566– 1567.
- Sharbidre, A.A., Metkari, V. and Patode, P., (2011). Effect of methyl parathion and chlorpyrifos on certain biomarkers in various tissues of guppy fish, *Poecilia reticulata*, *Pesti. Biochem. Physio.*, 101: 132–141.

- Singh, B., and Singh, V., (2008). Pesticide bioaccumulation and plasma sex steroids in fishes during breeding phase from north India, *Envir. Tox. Pharma.*, 25: 342–350.
- Sinhorin, V.D.G., Sinhorin, A.P., dos Santos Teixeira, J.M., Miléski, K.M.L., Hansen, P.C. and Moreira, L., (2014). Effects of the acute exposition to glyphosate-based herbicide on oxidative stress parameters and antioxidant responses in a hybrid Amazon fish surubim (*Pseudoplatystoma sp*), *Ecotox. Envir. Safe.*, 106: 181–187.
- Song, X., Violin, J.D., Seidler, F.J. and Slotkin, T.A., (1998). Modelling the developmental neurotoxicity of chlorpyrifos in vitro: macromolecule synthesis in PC12 cells, *Toxicology Applied Pharmacolog*, 151: 182–191.
- Stara, A., Machova, J. and Velisek, J., (2012). Effect of chronic exposure to simazine on oxidative stress and antioxidant response in common carp (*Cyprinus carpio* L), *Envir. Toxicol. Pharm.*, 33: 334–343.
- Stara, A., Kristan, J., Zuskova, E. and Velisek, J., (2013). Effect of chronic exposure to prometryne on oxidative stress and antioxidant response in common carp (*Cyprinus carpio* L.), *Pesti. Biochem. Physio.*, 105: 18–23.
- Sun Y., Oberley L.W. and Li Y., (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase, *Clinical Chemistry*, 34: 497-500.
- Sung, C., Hsu, Y.C, Chen, C., Lin, Y.F. and Wu, C., (2013). Oxidative stress and nucleic acid oxidation in patients with chronic kidney disease, *Oxidative Medicine Cellular Longevity*, 15.
- Tauber, R., Gillan, N., Crouch, L. and Greenhalgh, R., (2006). Liquid chromatography/fluorescence method for emamectin B1a and desmethylamino- emamectin B1a residues in lobster tissue, *Journal of AOAC Inter*, 89: 1672–1676.
- Tilak, K.S., Veeraiah, K. and Ramanakumari, G.V. (2001). Toxicity and effect of chloropyriphos to the freshwater fish *Labeo rohita* (Hamilton), *Neur. Res.*, 20: 438–445.
- Topal, A., Atamanalp, M., Uçar, A., Oruç, E., Kocaman, E.M., Sulukan, E., Akdemir, F., Beydemir, Ş., Kılınç, N., Erdoğan, O. and Ceyhun, B., (2015). Effects of glyphosate on juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Transcriptional and enzymatic analyses of antioxidant defence system, histopathological liver damage and swimming performance, *Ecotox. Envir. Safe.*, 111: 206–214.

- Trídico, C.P., Rodrigues, A.C.F., Nogueira L., Silva, D.C., Moreira, A.B. and Almeida E.A.i, (2010). Biochemical biomarkers in *Oreochromis niloticus* exposed to mixtures of benzo[a]pyrene and diazinon, *Ecotox. Environ. Safe.*, 73: 858–863.
- Tripathi, G. and Shasmal, J., (2010). Reparation of chlorpyrifos-induced impairment by thyroxine and vitamin C in fish, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 73: 1397–1401.
- Tripathi, G. and Shasmal, J., (2011). Concentration related responses of chlorpyrifos in antioxidant, anaerobic and protein synthesizing machinery of the freshwater fish, *Heteropneustes fossilis*, *Pest. Bioch. Physio.*, 99: 215–220.
- Uçar, A., Al-Hamdani, A.H.A., Alak, G., Atamanalp, M., Topal, A., Arslan, H., Parlak, V., Fakioğlu, Ö. ve Şensurat, T., (2012). Karboksın'ın gökkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*)'nda süperoksitdismutaz enzim aktivitesi üzerine etkisi, *Biy. Bi. Araş. Der.*, 5: 83-85.
- Ural, M.Ş., (2013). Chlorpyrifos-induced changes in oxidant/antioxidant status and haematological parameters of *Cyprinus carpio carpio*: Ameliorative effect of lycopene, *Chemosphre*, 90: 2059–2064.
- USEPA, (2000). Reregistration eligibility science chapter for chlorpyrifos. Fate & environmental risk assessment chapter.
- US Geological Survey (2011). Pesticide national synthesis project, annual pesticide use maps abamectin.
- Van Der Oost, R., Beyer, J. and Vermeulen, N.P.E., (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: A review, *Environmental Toxicology Pharmacology*, 13: 57–149.
- Velisek, J., Stara, A., Kolarova, J. and Svobodova, Z., (2011). Biochemical, physiological and morfological responses in common carp (*Cyprinus carpio* L.) after long-term exposure to terbutryn in real environmental concentration, *Pesticide Biochemistry Physiology*, 100: 305–313.
- Verma, R.S., Mehta, A. and Srivastava, N., (2007). *In vivo* chlorpyrifos induced oxidative stress: Attenuation by antioxidant vitamins, *Pesti. Bioch. Physio.*, 88: 191–196.
- Vinodhini, R. and Narayanan, M., (2009). Biochemical changes of antioxidant enzymes in common carp (*Cyprinus carpio* L.) after heavy metal exposure, *Turkish J. Veter. Animal Science*, 33: 273–278.

- Wang, C., Lu, G., Cui, J. and Wang, P., (2009). Sublethal effects of pesticide mixtures on selected biomarkers of *Carassius auratus*, *Envir. Toxic. Pharma.*, 28: 414–419.
- Wang, L. Zhao, P., Zhang, F., Li, Y., Du, F. And Pan, C., (2012). Dissipation and residue behavior of emamectin benzoate on apple and cabbage field application, *Ecotox. Envir. Saf.*, 78: 260–264.
- White, S.M., Dunbar, D.M., Brown, R., Cartwright, B., Cox, D., Eckel, C. and Jansson, R.K., (1997). Emamectin benzoate: a novel avermectin derivative for control of lepidopterous pests in cotton, *Memphis*, 1078-1082.
- Woo, S., Yum, S., Kim, D.W. and Park, H.S., (2009). Transcripts level responses in a marine medaka (*Oryzias javanicus*) exposed to organophosphorus pesticide, *Com. Biochç Physiol.*, 149C: 427–432.
- Wood, B. and Stark, J.D., (2002). Acute toxicity of drainage ditch water from a Washington State cranberry-growing region to *Daphnia pulex* in laboratory bioassays, *Ecotox. Envir. Safe.*, 53: 273–280.
- Xie, X.C., Gong, S., Wang, X.R., Wu, Y.X. and Zhao, L., (2011). Simplified RP-HPLC method for multi-residue analysis of abamectin, emamectin benzoate and ivermectin in rice, *Food. Addt. Contam.*, 28: 19–25.
- Xing, H., Wanga, X., Sun, G., Gao, X., Xu, S. and Wang, X., (2012). Effects of atrazine and chlorpyrifos on activity and transcription of glutathione S-transferase in common carp (*Cyprinus carpio* L.), *Envir. Toxic. Pharma.*, 33: 233–244.
- Xing, H., Wang, Z., Wu, H., Zhao, X., Liu, T., Li, S. and Xu, S., (2015). Assessment of pesticide residues and gene expression in common carp exposed to atrazine and chlorpyrifos: Health risk assessments, *Ecotox. Envir. Safe.*, 113: 491–498.
- Yan, S., Wang, J., Zhu, L. Chen, A. and Wang, J., (2015). Toxic effects of nitenpyram on antioxidant enzyme system and DNA in zebra fish (*Danio rerio*) livers, *Ecotox. Envir. Safe.*, 122: 54–60.
- Yen, T.H. and Lin, J.L., (2004). Acute poisoning with emamectin benzoate, *Clinical Toxicology*, 42(5): 657-661.
- Yildirim, N.C., Benzer, F. and Danabas, D., (2011). Evaluation of environmental pollution at Munzur River of Tunceli applying oxidative stress biomarkers in *Capoeta trutta* (Heckel, 1843), *J. Anm. Plnt. Scien.*, 21(1): 66-71.

- Yonar, M.E. and Sakin, F., (2011). Ameliorative effect of lycopene on antioxidant status in *Cyprinus carpio* during pyrethroid deltamethrin exposure, *Pesti. Bioch. Physio.*, 99: 226–231.
- Yonar, M.E., Mişe Yonar, S., Ural, M.Ş., Silici, S. and Düşükcan, M., (2012). Protective role of propolis in chlorpyrifos-induced changes in the haematological parameters and the oxidative/antioxidative status of *Cyprinus carpio carpio*. *Fod Chemi. Toxic.*, 50: 2703–2708.
- Zhang, J.F., Shen, H., Wang, X.R., Wu, J.C. and Xue, Y.Q., (2004). Effects of chronic exposure of 2,4-dichlorophenol on the antioxidant system in liver of freshwater fish *Carassius auratus*, *Chemosphre*, 55: 167–174.
- Zhang, J.F., Liu, H., Sun, Y.Y., Wang, X.R., Wu, J.C. and Xue, Y.Q., (2005). Responses of the antioxidant defenses of the Goldfish *Carassius auratus*, exposed to 2,4-dichlorophenol, *Envir. Toxic. Pharma.*, 19(1): 185-190.
- Zirong, X. and Shijun, B., (2007). Effects of waterborne Cd exposure on glutathione metabolism in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) liver, *Ecotox. Envir. Safe.*, 67: 89–94.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ramazan TUTUŞ
Doğum Yeri : ADANA
Doğum Tarihi : 01.09.1990
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Enver Kurttepelı Lisesi – 2007
Lisans : Adıyaman Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji
Bölümü – 2013
Yüksek Lisans : Adıyaman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü - 2016

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

- Tübitak Bilim ve Toplum Projeleri Destekleme Programı
4004 No’lu Proje - Kommagene Bilim, Doğa ve Sanat Kampı (2011)

Yayınları (SCI ve diğer)

- Ö. Fırat, Ö. Fırat, **R. Tutuş**, H. Karadağ, Ö. Koç, R.C. Bozat. Adıyaman’ın Güncel Çevre Sorunları. Adıyaman Üniversitesi Bilim, Kültür ve Sanat Sempozyumu-II, 02-03 Nisan 2015, Adıyaman.

EK-1. Etik Kurul Kararı

**T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL
ETİK KURULU**

Toplantı Sayısı	Toplantı Tarihi	Toplantı Yeri	Oturum Başkanı
5	26.08.2014	Ç.Ü.T.F.-DETAUM	Prof. Dr. Ergin ŞİNGİRİK

KARAR NO 8- Adıyaman Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Doç.Dr.Özgür FIRAT'ın sorumlu araştırmacı olarak yürütmesi öngörülen, **"OREOCHROMIS NİLOTICUS'UN KARACİĞER DOKUSUNDAKİ ANTİOKSİDAN SİSTEMLER VE LİPİD PEROKSİDASYONU ÜZERİNE CHLORPYRİFOS, EMAMECTİN BENZOATE VE ABAMECTİN TÜRÜ PESTİSİTLERİN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ"** başlıklı proje, araştırma etiği yönünden değerlendirildi; toplantıya katılan üyelerin oybirliğiyle uygun olduğuna karar verildi.

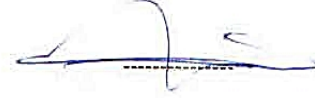
BAŞKAN Prof. Dr. Ergin ŞİNGİRİK
Araştırmacı Uzman Üye
Farmakoloji A.B.D. Öğretim Üyesi



ÜYELER Doç. Dr. Yusuf Kenan DAĞLIOĞLU
Veteriner Hekim
ÇÜTF-DETAUM Müdürü

B. K. K.

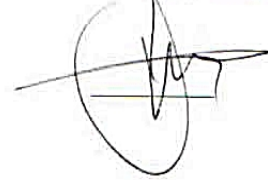
Prof. Dr. Fatih KÖKSAL
Araştırmacı Uzman Üye
Mikrobiyoloji A.B.D. Öğretim Üyesi



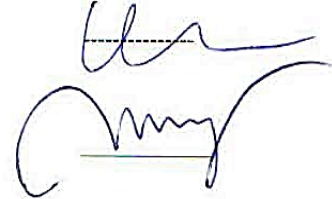
Prof. Dr. Mustafa EMRE
Araştırmacı Uzman Üye
Biyofizik A.B.D. Öğretim Üyesi

M. E.

Prof. Dr. Gülşah SEYDAOĞLU
Araştırmacı Uzman Üye
Biyostatistik A.B.D. Öğretim Üyesi



Doç. Dr. Selim KADIOĞLU
Tıp Etiği Uzmanı Üye
Deontoloji ve Tıp Tarihi A.B.D. Öğretim Üyesi



Doç. Dr. Bertan YILMAZ
Araştırmacı Uzman Üye
Tıbbi Biyoloji A.B.D. Öğretim Üyesi

B. Y.

Av. Mehmet Ali AKGÜL
Sivil Toplum Kuruluşu Üyesi
[Meslek Dışı ve Kurum Dışı Üye]

M. A.

Sezgin KERTMEN
Sivil Üye
[Meslek Dışı ve Kurum Dışı Üye]

