



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

BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

**PERMETHRİNE MARUZ KALMIŞ SAZAN BALIKLARINDA
(*Cyprinus carpio* L. 1758) ANTİOKSİDAN DEĞİŞİMLERİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Orhan UĞURER

**DANIŞMAN
Prof. Dr. İbrahim ÖRÜN**

AKSARAY, 2020



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

BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

**PERMETHRİNE MARUZ KALMIŞ SAZAN BALIKLARINDA
(*Cyprinus carpio* L. 1758) ANTİOKSİDAN DEĞİŞİMLERİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Orhan UĞURER

**DANIŞMAN
Prof. Dr. İbrahim ÖRÜN**

AKSARAY, 2020

Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 1822307011 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi, Orhan UĞURER tarafından hazırlanan “**PERMETHRİNE MARUZ KALMIŞ SAZAN BALIKLARINDA (Cyprinus carpio L. 1758) ANTİOKSİDAN DEĞİŞİMLERİN İNCELENMESİ**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ/ OY ÇOKLUĞU ile Fen Bilimleri Eğitimi Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. İbrahim ÖRÜN

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.....

Üye: Doç. Dr. Belda ERKMEN

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.....

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Nuh KORKMAZ

Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.....

Tez Savunma Tarihi:19.01.2021

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Doç. Dr. Mehmet Ali HİNİS

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, akademik kurallara ve bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın yazdığımı, yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu, çalışmamda kullandığım verilerin orijinalliğini ve her türlü intihalden uzak olduğunu beyan ederim.

Enstitü tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

Orhan UĞURER

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu araştırmanın ders ve tez konusunun seçiminde, laboratuvar analizleri, tez yazım ve tezin uluslararası kongrelerde sunulmaları aşamasında yardımlarını esirgemeyen ve daima yanımda olan yürütülmesinde bilgi ve tecrübesiyle beni yönlendiren, yapmış olduğu katkı ve önerilerinden dolayı ve çalışmanın her aşamasında büyük desteğini gördüğüm olağan hayattada birçok yönünü örnek aldığım, saygıdeğer danışman hocam Sayın Prof. Dr. İbrahim Örün'e en içten dileklerimi, minnettarlığımı ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez yazım ve tezin uluslararası kongrede sunulmaları aşamasında yardımlarını esirgemeyen, çalışmaların her aşamasında destek olan Dr.Nuh Korkmaz hocama,

Yine ders aşamasında ve laboratuvar analizleri aşamasında bilgi ve birikimlerinden çok şeyler öğrendiğim Sayın Prof. Dr. Mehmet İlker Doğru ve Dr. Kenan Erdoğan hocalarıma,

Eğitim hayatımın başından sonuna kadar bana inanan, eğitim öğretim sürecinde benden maddi manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen canım aileme teşekkür ve minnetlerimi sunuyorum.

Tezimin gerçekleşmesinde FMB-BAP-17-0285 numaralı proje destek sağlayan Amasya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne ve deneyde kullandığımız balıkları hibe eden Orman ve Su İşleri Bakanlığı DSİ 7. Bölge Müdürlüğü 73. Şube Müdürlüğü Yedikır Su Ürünleri İstasyonu birimine, ayrıca tez çalışmalarımın yapıldığı laboratuvarlarını bizlere sunan Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğüne teşekkür ederim.

Orhan UĞURER

AKSARAY, 2020

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1 Pestisitler	3
2.1.1 Pestisitlerin sınıflandırılması	4
2.1.2 Pestisitlerin insan ve çevre sağlığına etkileri	5
2.1.3 Türkiye’de pestisit kullanımı	7
2.2 Biyodeneyler ve Litaratür Özetleri	8
2.3 Antioksidan Enzimler	10
2.3.1 Antioksidanların sınıflandırılması	10
2.3.2 Süperoksit dismutaz (SOD)	11
2.3.3 Katalaz (CAT)	12
2.3.4 Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)	13
2.3.5 Lipid peroksidasyon (LPO)	14
2.4 <i>Cyprinus carpio</i> L. 1758	15
2.4.1 Pestisitlerin balıklar üzerindeki etkileri	17
2.4.2 Balıklarda antioksidan savunma sistemi	17
3. MALZEME VE YÖNTEM	20
3.1 Materyal	20
3.1.1 Deneyde kullanılacak hayvanlar ve temini	20
3.1.2 Deney akvaryumları ve düzeneği	20
3.1.3 Doku materyallerin alınması	22
3.2 Yöntem ve Analiz	22
3.2.1 Antioksidan enzim aktivite tayinleri	22
3.2.1.1 Katalaz aktivite tayini	22
3.2.1.2 Se-Bağımlı glutasyonperoksidaz aktivite tayini	23
3.2.1.3 Süperoksit dismutaz aktivite tayini	23
3.2.1.4 Lipit peroksidasyon aktivitesinin belirlenmesi	25
3.2.2 İstatistiksel analiz	25
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	26
4.1 Malondialdehit Bulguları	26
4.2 Süperoksit Dismutaz Bulguları	27
4.4 Katalaz Bulguları	29
4.5 Glutasyon Peroksidaz Bulguları	30
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	32
6. ÖNERİLER	37
KAYNAKLAR	38
ÖZGEÇMİŞ	51

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PERMETHRİNE MARUZ KALMIŞ SAZAN BALIKLARINDA (*Cyprinus carpio* L. 1758) ANTİOKSİDAN DEĞİŞİMLERİN İNCELENMESİ

Orhan UĞURER

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İbrahim ÖRÜN

ÖZET

Bu çalışmada, iki farklı dozda sentetik piretroid permethrin'e (kontrol, araç, 10 ppm ve 20 ppm) iki farklı dönem (4 gün 21 gün) maruz kalan sazan balıklarının antioksidan parametrelerindeki değişiklikleri araştırmayı amaçladık. Deneyde kullanılan sazan balıkları Yedikir Su Ürünleri Çiftliği'nden (Amasya, Türkiye) taşınmıştır. Balıklar 50-60 gr ağırlığında ve 12-14 cm uzunluğundadır. Deney, yarı statik bir sistemle doğal ışıkta (12h aydınlık-12h karanlık) gerçekleştirildi. Deney sırasında balıklar günde bir kez pelet yem (% 45 protein,% 19 yağ,% 3 ham lif) ile beslendi. Toplam protein ölçümü için Bradford yöntemi kullanıldı. Toplam protein miktarları hesaplandıktan sonra, doku homojenatlarında lipid peroksidasyonunun bir biyobelirteci olan MDA miktarı Beuge ve Aust (1972) yöntemi ile belirlenmiştir. Enzim aktivitelerini incelemek için hazırlanan doku homojenatlarından elde edilen süpernatanlarda, katalaz (CAT) aktivitesi Luck (1963) , Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktivitesi Lawrance ve Burk (1976), süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi McCord ve Frivovich (1969) tarafından tarif edildiği gibi gerçekleştirildi. Çalışma sonunda elde edilen veriler 24.0 SPSS paket programında çift yönlü varyans analizi (two-way ANOVA) modeli uygulanarak $p < 0.05$ düzeyinde incelenmiş, karaciğerde istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edilmiştir. Her iki doz grubunda permethrine maruz kalan sazan balıklarının solungaç dokuları kontrol grubuna göre 4. ve 21. günlerde, CAT, SOD ve GSH-Px seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş saptandı ($p < 0.05$). Sonuç olarak permethrin, *Cyprinus carpio*'da toksik etki yaparak antioksidan sistemi indükler.

Anahtar Sözcükler: Permethrin, Antioksidan, *Cyprinus carpio*.

Aralık, 2020; 51 sayfa

M.Sc. THESIS

INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT CHANGES IN COMMON CARPS FISH (*Cyprinus carpio* L. 1758) EXPOSED TO PERMETHRINE

Orhan UĞURER

**Aksaray University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Science Education**

Supervisor: Prof. Dr. İbrahim ÖRÜN

ABSTRACT

In this study, we aimed to investigate the changes in antioxidant parameters of carp fish exposed to two different doses (control, vehicle, 10 ppm and 20 ppm) of the synthetic pyrethroid permethrin for two different periods (4 days and 21 days). The carps used in the experiment were transported from Yedikır Fisheries Farm (Amasya, Turkey). They have the weight of 50-60 g and length of 12-14 cm. The experiment was carried out with a semi-static system in natural light (12h light-12h dark). During the experiment, fish were nourished with pellet feed (45% protein, 19% fat, 3% crude fiber) once a day. Bradford method was used for total protein quantification. After calculating the total protein amounts, the amount of MDA, which is a biomarker of lipid peroxidation in tissue homogenates, was determined by the method of Beuge and Aust (1972). Catalase (CAT) activity Luck (1963), glutathione peroxidase (GSH-Px) enzyme activity Lawrance and Burk (1976), superoxide dismutase (SOD) enzyme activity McCord and Frivovich (1969) in supernatants prepared to examine enzyme activities. Performed as described by. The data obtained at the end of the study were analyzed at the $p < 0.05$ level by applying two-way analysis of variance (two-way ANOVA) in the 24.0 SPSS package program, and a statistically significant increase in liver was detected in the liver and gill tissues of the carp fish exposed to permethrin in both dose groups at 4 and 21 days compared to the control group, while a statistically significant decrease was found in the levels of CAT, SOD and GSH-Px ($p < 0.05$). In conclusion, permethrin induces the antioxidant system by making a toxic effect in *Cyprinus carpio*.

Keywords: Permethrine, Antioxidant, *Cyprinus carpio*.

December, 2020; 51 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Antioksidanların sınıflandırılması	11
Şekil 2.2. <i>Cyprinus carpio</i>	16
Şekil 2.3. Antioksidan savunma sistemi	18
Şekil 3.1. Akuatik Toksikoloji Laboratuvarı Akvaryum Sistemi (Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Merkezi Araştırma Laboratuvarı)....	20
Şekil 3.2. Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi.....	21
Şekil 4.1. PER'in sazan balıklarının (<i>Cyprinus carpio</i> L. 1758) karaciğer ve solungaç dokuda malondialdehit (MDA) seviyeleri üzerine etkileri.....	27
Şekil 4.2. PER'in sazan balıklarının (<i>Cyprinus carpio</i> L. 1758) karaciğer ve solungaç dokuda süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri üzerine etkileri.....	28
Şekil 4.3. PER'in sazan balıklarının (<i>Cyprinus carpio</i> L. 1758) karaciğer ve solungaç dokuda katalaz (CAT) aktiviteleri üzerine etkileri.....	30
Şekil 4.4. PER'in sazan balıklarının (<i>Cyprinus carpio</i> L. 1758) karaciğer ve solungaç dokuda glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri üzerine etkileri.....	31

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Deney grupları.	21
Çizelge 3.2. SOD aktivite tayininde kullanılan çözelti miktarları	24
Çizelge 4.1. Farklı doz gruplarında (Per10 ppm ve Per20 ppm) ve sürelerde (4 ve 21 gün) MDA'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> 'nun solungaç ve karaciğer verileri.....	26
Çizelge 4.2. Farklı doz gruplarında (Per10 ppm ve Per20 ppm) ve sürelerde (4 ve 21 gün) SOD'ya maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> ' nun solungaç ve karaciğer verileri.....	28
Çizelge 4.3. Farklı doz gruplarında (Per10 ppm ve Per20 ppm) ve sürelerde (4 ve 21 gün) CAT'a maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> ' nun solungaç ve karaciğer verileri.....	29
Çizelge 4.4. Farklı doz gruplarında (Per10 ppm ve Per20 ppm) ve sürelerde (4 ve 21 gün) GSH-Px'za maruz kalmış <i>Cyprinus carpio</i> 'nun solungaç ve karaciğer verileri.	31

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALS	Amyotrofik Lateral Skleroz
Ca	Kalsiyum
CAT	Katalaz
CY	Sipermethrin
CYP	Sitokrom
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EC-SOD	Düz Kas Hücrelerinde Süperoksit Dismutaz Ekstrasyonu
EDC	Endokrin Bozucu Kimyasallar
EQS	Çevre Kalite Standartı
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
G6PDH	Glikoz 6 Fosfat Dehidrogenaz
GR	Glutasyon Redüktaz
GSH	Redükte Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
GSSG	Glutasyon Disülfid
GST	Glutasyon S-Transferaz
H2O2	Hidrojen Peroksit
LD50	Toksikolojide Ortalama Öldürücü Doz
LOOH	Lipid Hidroperoksit
LPO	Lipid Peroksidaz
MDA	Malondihaldehit
MRL	Maksimum Kalıntı Değeri
OH	Hidroksil
PER	Permethrin
RNS	Reaktif Azot Türleri
ROOH	Radikal Hidroksil
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
Se	Selenyum
SOD	SüperoksitDismutaz
SP	Sentetik Piredroit
TBARS	TiyobarbiturikAsitReaktifMaddeleri
U.S.EPA	Amerikan Çevre Koruma Ajansı
Vd.	Ve Diğerleri
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
°C	Santigrat
µg/L	Mikrogram/litre
cm	Santimetre
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
kg/ha	Kilogram/Hektar
L	Litre
m	Metre
ml	Mililitre
mg	Miligram
mg/L	Miligram/Litre
mm	Milimetre
pH	Asitlik ve Bazlık Derecesi
ppm	Mg Çözünen/Kg veya Litre Çözelti

1. GİRİŞ

Günümüzde artan nüfusun besin ihtiyacını karşılamada en önemli alanların tarım ve sucul ekosistemler olduğu görülmektedir. İnsanların alternatif besin kaynağı arayışı, ucuz ve besin değeri yüksek olan sucul canlılara yönelmeyi her geçen gün güçlendirmektedir. Hızla artan nüfus yakın gelecekte sürdürülebilir gıda üretimini zorlayacak hatta besin kıtlığı kendini gösterecektir.

Ancak artan besin ihtiyacını karşılamak ve daha dayanıklı ürünler elde etmek üzere tüm dünya sentetik üretime dönmüş buda beraberinde kirliliği ortaya çıkarmıştır. Özellikle tarım alanlarından yüksek rekolteli ürün elde etmede sık tercih edilen pestisitler; tarım zararlarına karşı önemli bir rol oynarken, hedef olmayan organizmalar üzerinde oldukça toksik etkiler oluşturmaktadır (Başpınar vd., 2010; Tiryaki vd., 2010). Yakın gelecekte tarım alanlarında kullanılan pestisitlerin tarım zararlılarına oluşturmuş olduğu direncin yanında canlıların besin zincirinde rol oynayan diğer canlılara da ulaşması hatta drenaj yollarıyla sucul ortamlara ulaşması küresel kirlilik sorunlarının başında gelmektedir (Singh vd., 2010).

Sentetik piretroidler, en çok kullanılan pestisitlerden biri olup ve sıklıkla sucul ortamda birikmektedir. Sentetik piretroidlerin dünya genelinde tarım kimyasalları içinde %25 pazar payına sahiptirler (Yavuz vd., 2015). Sentetik piretroidlerin balıklarda direk ölümün yanında yumurtlama verimi ve üreme üzerindeki olumsuz etkilere olduğu bilinmektedir. Hatta yavru balıklar olumsuz çevre koşullarından daha çok etkilenirler (Toros ve Maden, 1991). İnsektisitler balıklarda davranış bozukluklarına ve hematolojik parametrelerde azalmalara, canlı organizmalarda birikimi sonucu, genotoksik ve kanserojen etkiye neden olduğu rapor edilmiştir (Pandey vd., 2003; Khan vd., 2006; Diran vd., 2006; Zhang vd., 2010).

Permethrin [(3-fenoksifenil) metil 3- (2, 2-dikloroetilen) -2, 2-imetilsiklopropan karboksilat] bir piretroid grubu insektisittir. Zararlı ve böcek istilasını kontrol etmek için tarım ve hayvancılık endüstrisinde büyük oranda kullanılmaktadır. Sucul ortamda oldukça etkilidir (URL-1). Yüksek toksisitesinden dolayı insan sağlığı ve akuatik ortam için bir tehlike oluşturmaktadır (Lloyd, 1992). Kuşlar ve memeliler üzerinde düşük toksisiteye sahip olmasına rağmen (Abernathy ve Casida, 1973) balıklar üzerinde toksik etki gösterdiği bildirilmiştir (Sellami vd., 2014a).

Sazan balıkları besin değeri yüksek, ucuz ve iç suların dominant canlılarıdır. Fakat özellikle tarım kimyasalları ve evsel atıklardan dolayı populasyon yoğunluğu ve büyüme performansları her geçen gün azalmaktadır. Oysa insan sağlığı açısından son derece önemli olan ve tercih edilen balık eti ve yağları bu olumsuz çevre koşullarından fazlaca etkilenmektedir.

Sucul habitatlarda meydana gelen değişikliklerin etkileri balıklarda üzerinde oluşturabileceği olumsuzlukları belirlemede fizyolojik, biyokimyasal, antioksidan ve histopatolojik birçok gösterge kullanılabilmektedir. Araştırmamızda dünya genelinde sıkça kullanılan permethrinin farklı doz ve sürelerde sazan balıklarının karaciğer ve solungaç dokularındaki antioksidan aktivite değişimlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bu tez kapsamında yürütülen çalışmalar, bölgenin jeolojik ve hidrojeolojik özelliklerinin belirlenmesine yönelik olarak literatür tarama, arazi çalışmaları, laboratuvar çalışmaları ve büro çalışmaları olmak üzere dört aşamada gerçekleştirilmiştir.

2.1 Pestisitler

Tarım kimyasalları içinde yüksek orana sahip pestisitler; madde miktarı ve toksik etki derecesine göre sucul canlılarda fizyolojik ve biyokimyasal değişikliklere neden olabileceği gibi doku hasarında da önemli histopatolojik olumsuzluklara neden olabilmektedir. Pestisitler canlıda yüzme ve üreme davranışlarında bozulmalara neden olabileceği gibi yüksek mortaliteye de sahiptir. Ayrıca biyolojik birikim nedeniyle de dolaylı olarak besin zinciri yoluyla insan sağlığını etkileyerek büyük oranda halk sağlığı sorunları da oluşturmaktadır.

Pestisitler, istenmeyen bitkiler (yabani otlar),böcekler, kemirgenler ve mantarlar da dâhil olmak üzere zararlıları öldürmek için kullanılan kimyasal bileşiklerdir. Pestisitler temel olarak ekinlerin korunması, gıda maddelerinin korunması ve vektör kaynaklı hastalıkların önlenmesi gibi faydalar için de kullanılır. Ayrıca tarım, ormancılık, su ürünleri yetiştiriciliği, gıda endüstrisi, odun ve diğer biyolojik ürünlerin işlenmesi, taşınması ve depolanması gibi farklı alanlarda da kullanılmaktadır. Büyük miktarda pestisit kullanımı, halk sağlığına ve ekosisteme zarar verir. Dünya pestisit üretiminin %85'ini tüketen gelişmekte olan ülkelere zehirlenme görülme sıklığı yüksek sanayileşmiş ülkelere göre 13 kat daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Gelişmekte olan ülkelerdeki pestisitle ilgili zehirlenmelerin çoğu, kullanımları konusunda eğitim eksikliğine, zayıf yasal kontrollere ve uygulamaları sırasında vücuda koruma sağlamadaki dikkatsizliğe bağlanabilir. Pestisitlerin hepsi hava, toprak ve su yoluyla bir şekilde dağılmış olsalar bile çevrede farklı dağılım ve kalıcılık modellerine sahiptir. Pestisitlerin risk faktörlerini göz ardı etmeden, onu daha iyi mahsul üretimi ve gıda koruması için kullanmalıyız. Ancak, pestisitlerin farklı sınıflandırmalarının yardımıyla akıllıca kullanılmasıyla, toksik etkileri en aza indirilebilir (Megha vd., 2018).

Pestisitler; toksisiteye (tehlikeli etkileri), öldürdükleri zararlı organizma ve pestisit işlevi, kimyasal bileşim, giriş şekli, etki şekli, nasıl ve ne zaman çalıştıkları, formülasyonlar ve orjinleri gibi çeşitli kriterlere göre sınıflandırılır.

2.1.1 Pestisitlerin sınıflandırılması

Pestisitler sınıflandırılmasında kullanıldıkları zararlılar, zararlılara etki şekilleri ile etki maddesi gibi kriterler rol oynamaktadır. Bu yönde herbisit, fungusit, insektisit vb., hedefli pestisitler yoğun şekilde kullanılmakta ve sınıflandırılmaktadır (Klaassen, 2001). Pestisit toksisitesi, temel olarak doz ve zaman olmak üzere iki faktöre bağlıdır. Yüksek akut toksisiteye sahip bir pestisit, çok az miktarda emildiğinde bile ölümcüldür. Akut toksisite ölçümü akut oral toksisite, akut dermal toksisite ve akut inhalasyon toksisitesi olarak ölçülebilir. Kronik toksisite ise bir pestisite maruziyetten kaynaklanan gecikmiş zehirli etkidir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), pestisitlerin sınıflandırılması için yalnızca akut toksisiteyi vurgulamıştır. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, pestisitler, tahmini ilgili öldürücü doz LD₅₀ (vücuda oral veya deri yoluyla girerken test edilen hayvanların yarısını öldürmek için gereken pestisit dozu) kullanılarak akut oral ve akut dermal toksisiteye göre sınıflandırılır.

Pestisitler içerisinde sentetik piretroidler en çok kullanılan olup sıklıkla sucul ortamlarda saptanırlar.

Ülkemizin Avrupa Birliğine girme aşamasına geldiği bu günlerde, pestisit kalıntı çalışma ve analizlerine yönelik çalışmaların yetersiz olduğu gözlenmektedir. Oysa gelişmiş ülkelerde bu yöndeki çalışmalar büyük bir yoğunluk kazanmıştır ve gıdalarda rutin olarak yapılmaktadır. Pestisit kalıntılarının en önemli kaynağının gıdalar olması nedeniyle 1960 yılında FAO (Gıda ve Tarım Örgütü) ve WHO (Dünya Sağlık Örgütü), "Pestisit Kalıntıları Kodeks Komitesi"ni kurdular. Bu komitenin çalışmaları ile ilgili tanımlamalar yapıldı ve bilimsel araştırma verilerine dayanılarak gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı değerleri (MRL) saptandı (Yücel, 2007). Avrupa Komisyonu, Avrupa'da tüm suların temiz ve sağlıklı olmasını sağlamak için Su Çerçeve Direktifi (2000/60/EC) ile ülkelerin sucul ortamda kimyasal kirleticilerin tespit edilmesini ve kontaminasyon sonucu oluşan hasarın önlenmesi için harekete geçilmesini sağlamıştır. 2013/39/EC sayılı direktif ile tekrar düzenlenmiş olan 2008/105/EC sayılı direktif 45, öncelikli madde olarak

adlandırılan kimyasallar için yüzey sularında Çevresel Kalite Standardı (EQS) belirlemiştir. Bu öncelikli maddelerin çoğu endokrin baskılayıcı, vahşi yaşam ve insan hormonlarının normal gelişim ve fonksiyonlarını etkileyerek etkileşime giren kimyasallar olarak tanımlanırlar. Bu maddelerin çoğu nehirler, göller veya denizler gibi yüzey sularında katı partiküllere absorbe olarak alttaki sediment kısmında biyoakümü olurlar. Sucul ortamda yaşayan organizmalar ise besin zinciri yolu ile bu maddeleri bünyelerinde biriktirirler.

2.1.2 Pestisitlerin insan ve çevre sağlığına etkileri

Bir pestisitın çevreye olan etkisini onun kimyasal yapısı, formülasyon tipi, fiziksel özellikleri, uygulama şekli, iklim ve tarımsal koşullar gibi faktörler etkilemektedir. Pestisitlerin püskürtülerek uygulanması sırasında bir kısmı buharlaşma ve dağılma nedeniyle çevreye yayılırken diğer kısmı bitki üzerinde ve toprak yüzeyinde kalmaktadır. Çevreye yayılan pestisit rüzgârlarla taşınabilir, yağmur, sis veya kar yağışıyla tekrar yeryüzüne dönebilir. Bu yolla hedef olmayan diğer organizma ve bitkilere ulaşan pestisit, bunlarda kalıntı ve toksisiteye neden olabilmektedir. Pestisitlerin öneriler doğrultusunda kullanılmaması, kalıntıları ile insan sağlığı üzerinde ve çevrede olumsuz etkilere yol açabilmektedir. Bazı pestisitler, biyolojik ayrışmaya karşı dayanıklıdır. Çünkü bunların hidroliz ve oksidasyonlarını gerçekleştirecek enzimlere doğada rastlanmamaktadır. Dolayısıyla doğadaki dolanım yoluyla suya karışabilir ve sudaki diğer maddelerle başka kalıcı bileşiklere dönüşebilmektedir. Pestisitler biyolojik birikimle canlıların vücutlarında yoğunlaşabilir (bioconcentration). Bu maddelerin ve türevlerinin bitki ve hayvan bünyelerinde depolanarak besin zincirine katılmaları son yılların en büyük sorunları arasında yer almaktadır. Bu sonuç beslenme zincirinin tepesinde bulunan insanı, en çok etkilenebilecek canlılar konumuna getirmektedir. Pestisitler, bu besin zincirinde hareket ederken her aşamada daha büyük bir orana ulaşmaktadır.

Piretroid insektisitler, yaygın olarak kullanılan çevresel kimyasalları temsil eder. Piretroidler kimyasal yapılarına göre iki gruptan oluşur: Tip I piretroidler α -pozisyonunda permethrin (PER), bir siyano kısımdan yoksundur, Tip II piretroidler ise sipermethrin (CY) gibi bir α -siyano kısmına sahiptir (Nasuti vd., 2003). Akut toksik doz alan hayvanlarda görülen semptomlara göre Tip I piretroidler aşırı uyarılma, ataksi, titreme ve felce neden olurken, Tip II piretroidler ise aşırı

duyarlılık, salivasyon ve koreoatetoza neden olurlar (Ray ve Fry, 2006). PER (3-fenoksi-benzil (7)cis/trans-3-(2,2-diklorovinil)-2,2-dimetilsiklopropan-1-karboksilat ($C_{21}H_{20}Cl_2O_3$, CAS No.52645-53-1), en sık kullanılan sentetik piredroid tip insektisitlerdir. Yerleşim alanlarında, tekstil endüstrisinde ve tarımsal ortamlarda zararlıları kontrol etmek, evcil hayvanlarda insanlarda ve pirelerde baş biti ve uyuz tedavisinde, halk sağlığı vektör kontrolünde ve ticari uçakların dezenfeksiyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır (Nasuti vd., 2003; Bradberry vd., 2005; Stout vd., 2009; Türkez ve Aydın, 2012; Anadón vd., 2013; URL-2; SEPA, 2013; Navarro vd., 2015; Varloud vd., 2015; Willemin vd., 2015).

Dünya çapında PER yoğun kullanımı nedeniyle, insanlar ve hayvanlar başta olmak üzere tüm canlılarda oluşabilecek maruziyetin artış potansiyelini gözler önüne sermektedir. PER etkisinin mekanizması, sodyum kanalları, reseptör-iyonofor kompleksleri ve nörotransmitterler ile etkileşimlidir (Imamura vd., 2000). PER, büyük ölçüde iki izomerik formu olan cis ve trans PER nedeniyle ve bir insektisit olarak yüksek aktivitesi ve düşük memeli toksisitesi nedeniyle kullanılan önemli bir insektisittir (Nasuti vd., 2008; Rosita vd., 2015). PER'in düşük memeli toksisitesi gösterdiğine inanılmasına rağmen, artan sayıda çalışma, PER'in hayvanlarda ve insanlarda nörotoksosite (Nasuti vd., 2007b, 2008, 2014; Gabbianelli vd., 2009b; Falcioni vd., 2010; Carloni vd., 2012), immünotoksosite (Olgun ve Misra, 2006; Gabbianelli vd., 2009a; Jin vd., 2010), kardiyotoksosite (Vadhana vd., 2010, 2011a, 2011b, 2013), hepatotoksosite (Gabbianelli vd., 2004, 2013), üreme (Issam vd., 2011), genotoksik (Türkez ve Togar, 2011; Türkez vd., 2012; Türkez ve Aydın, 2012, 2013) ve hematotoksik (Nasuti vd., 2003) etkiler, sindirim sistemi toksisitesi (Mahmoud vd., 2012; Sellami vd., 2014b, 2015), antiandrojenik aktivite (Xu vd., 2008; Christen vd., 2014) fetotoksosite, Erkmen (2015), ve sitotoksosite Hu vd. (2010) gibi çeşitli toksisitelere omurgalılarda ve omurgasızlarda neden olabileceğini göstermiştir. Artan kanıtlar, PER tarafından azaltılmış toksik etkilerin oksidatif stres ile yakından ilişkili olduğunu belgelemiştir. PER, neonatal sıçan beyinde oksidatif strese neden olan nörotoksik etkiler göstermiştir. PER'e doğum öncesi maruziyet, vasküler gelişimdeki değişiklikler yoluyla beynin yetersiz gelişmesine neden olabilmektedir (Imanishi vd., 2013). PER'in endokrin bozucu özelliğe sahip olduğu belgelenmiştir. Düşük PER dozlarının plazmada önemli lipoperoksidasyon ile birlikte testosteron konsantrasyonunda önemli uyumsuzluğa yol açtığı gösterilmiştir

(Issam vd., 2011). PER, önemli oksidatif stres ile birlikte üreme toksisitesine neden olabilir (Issam vd., 2011). Düşük dozlarda PER ile farklı subkutan tedavilerin, lipidperoksidasyon artışı, spermatogenezin deregülasyonu ile tradüce edilen bir testis rahatsızlığı ve epididimlerin mikro yapısında güçlü deformasyonların ortaya çıkmasıyla epididim disfonksiyonu ile sonuçlandığını belgelemiştir (Issam vd., 2011). Daha da önemlisi, erken yaşamda PER tedavisi, yetişkinlikte homeostatik süreçleri, fizyolojik parametreleri ve oksidatif stres durumunu değiştiren uzun vadeli etkilere sahip olabilir. Düşük PER insektisit dozları, kardiyak hipotrofiye, karaciğer ve beyin hasarına, lökositlerde ve plazmada düşük Ca^{+2} konsantrasyonlarına, beyinde Ca^{+2} artışına ve Nurr1, NF- κ B, Nf E2 ile ilgili faktör gibi oksidatif stresle ilişkili genlerde değişikliklere yol açan uzun vadeli sonuçlara sahiptir. PER ayrıca istiridye ve *Hexaplex trunculus* gibi oksidatif stres yaşayan deniz hayvanları üzerinde toksik etkiler göstermiştir. PER'in AchE aktivitesini inhibe ettiği, kabuk bileşiminde aragonitten kalsite faz geçişine neden olduğu ve oksidatif stresi önemli ölçüde artırdığı ortaya çıkmıştır (Sellami vd., 2014a, 2015). Buna ek olarak, PER ayrıca *Hexaplex trunculus*'ta toksik etkilere neden olmuştur ve katalaz (CAT) gibi önemli ölçüde artmış antioksidan enzim seviyeleri oluşturmuştur (Mahmoud vd., 2012). PER sentetik bir piretrioid olup tarım alanlarında, halk sağlığında (bit öldürücü) sıkça kullanılmaktadır (Güvenç vd., 2020).

Memelilerde düşük toksisiteye neden olurken omurgalı ve omurgasız canlılarda kanserojen etkiye sahiptir (Zhang vd., 2008). Bununla birlikte nöron kanallarında sodyum aktivitesini bozarak felç oluşturarak nörotoksik etkiye göstermektedir (Price vd., 2007). Karaciğer hepatosit hücrelerinde hasara neden olduğu bildirilmiştir. PER genel olarak insan ve hayvanlarda nörotoksitenin yanında, immünotoksik, oksidatif stres, reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türleri (RNS) üzerinde etkili olduğu rapor edilmiştir (Wang vd., 2016).

2.1.3 Türkiye’de pestisit kullanımı

FAO’nun 2015 yılı verilerine göre yıllık tarım ilacı miktarı hektara 4,91 kg, AB’de ise 2,69 kg’dır. AB’de birim alanda kullanılan tarım ilacı kullanımı Hollanda’da 9,34 kg/ha, İtalya’da 6,96 kg/ha, Almanya’da 4,03 kg/ha ve İngiltere’de 3,02 kg/ha ile üst sıradadırlar. Türkiye’de ise yine FAO’nun 2015 verilerine göre yaklaşık 1,63 kg/ha pestisit tüketildiği rapor edilmiştir. Türkiye’de birim alanda kullanılan pestisit

miktarı dünya ve AB ülkeleri ortalamasının oldukça gerisindedir. Türkiye’de Akdeniz Bölgesini %28, Ege Bölgesi %25, İç Anadolu Bölgesi %16 ve Marmara Bölgesi %16 ile genel olarak ülke tarım ilacı kullanımının %85’ine sahiptir. Bu verilere göre Türkiye’de tarım ilacı kullanım miktarının yarıdan fazlası sadece Akdeniz ve Ege bölgelerinde gerçekleşmektedir. Bu nedenle bu iki bölge pestisit kullanımı nedeniyle ortaya çıkabilecek sağlık sorunları konusunda ilk araştırılması gereken bölgelerdir (URL-3).

2.2 Biyodeneyler ve Litaratür Özetleri

Balıklarla ilgili yapılan çalışmalara doğal hayatın korunması ve insanlar açısından kaliteli bir beslenme yaklaşımına olumsuz etkisi olan çeşitli kimyasal maddelerin akut ya da subkronik etki düzeylerini ortaya koymada önemli bir yere sahiptir. Bu çalışmalarda hormonal, biyokimyasal, hematolojik, antioksidan ve histopatolojik yöntemler sıkça kullanılmaktadır (Adhikari vd., 2004). Bu çalışmalar olumsuz çevre koşullarının balıklar üzerinde oluşturduğu etkinin varlığını, tipini ve şiddetini göstermede indikatör olarak kullanılmaktadır (Blaxhall, 1972; Kavitha, 2010).

Yapılan çalışmalar; açlık, beslenme koşulları, stres, balığın yaşadığı ortamları ve balıkların maruz kaldığı organik ya da sentetik kimyasalların büyümeleri üzerine olumsuz etkiler oluşturduğunu göstermektedir.

Yıldız ve Ergönül (2010) stresin balıklarda immün sistemi baskıladığını ve uzun vadede balıkları hastalıklara karşı daha savunmasız hale getirebildiğinin birçok çalışmada gösterildiğini belirtmişlerdir.

Oksijen elektron çekim gücü nedeniyle oldukça reaktif bir moleküldür. O₂’nin H₂O’ya redüksiyon sırasında çok daha reaktif ara bileşikler oluşabilmektedir. Bu nedenle canlılar oksidatif stresin etkilerinden korunabilmek için antioksidan savunma sistemine sahiptirler. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon-S transferazlar (GST) antioksidan enzimler olup oksidatif stres tarafından indüklenen bileşenlerdir. Oksijen metabolizması ürünlerinin azaltılması SOD, CAT ve GSH-Px enzimatik hücresel savunma mekanizmalarıyla kontrol edilmektedir.

Cyprinus carpio yavrularının cyfluthrinin subletal dozajına maruz bırakılmasının balıkların beyin dokusunda MDA düzeyini arttırdığı rapor edilmiştir (Sepici vd., 2009). Farklı sürelerde diazinona maruz kalan *Rutilus rutilus*'un 24. saatteki CAT aktivitesinin artışı adaptasyon göstergesi olarak değerlendirilmiş, 48. ve 96. saatlerdeki CAT aktivitesinde ise azalma olduğu bildirilmiştir (Keramati vd., 2010). Yapılan başka bir çalışmada ise sazan balıkları diazinona 15 ve 30 gün maruz bırakılmışlardır. Çeşitli doku analizlerinde SOD, CAT ve GSH-Px enzim aktiviteleri üzerinde etkili olduğu ve MDA seviyesinde artışa neden olduğu bildirilmiştir (Oruç ve Usta, 2007). Bir organoklorlu pestisit olan endosulfanın farklı uygulama dozlarının *Oncorhynchus mykiss* CAT, GST ve GSH-Px enzim aktiviteleri ile MDA seviyesini yükselttiğini bildirmişlerdir (Dorval ve Hontela, 2003). Kavitha ve Rao (2008), *Gambusia affinis*'te klorpirifosun bazı antioksidan enzimler üzerine etkisini incelemişlerdir. 96 saatlik uygulama sonucunda kas dokusunda SOD ve CAT enzimlerinin inhibe edildiğini ortaya çıkarmışlardır. Song vd., (2006) heksaklorobenzen maruz kalan *Cyprinus carpio* karaciğer dokusunda düşük dozlarda SOD enzim aktivitesinde anlamlı bir değişim olmadığını, yüksek dozlarda ise SOD enzim aktivitesinin azaldığını bildirilmiştir. Peixoto vd. (2006) oksiflorfen etkisinin *Oreochromis niloticus* karaciğer dokusunda CAT enzim aktivitesini arttırdığını, SOD enzim aktivitesini ise süreye bağlı olarak azalttığını bildirmişlerdir. Ferrari vd. (2007) karbarilin, *Oncorhynchus mykiss* karaciğer dokularında CAT enzim aktivitesini artırdığını; buna karşılık azinfosmetilin CAT enzim aktivitesini düşürdüğünü bildirmişlerdir.

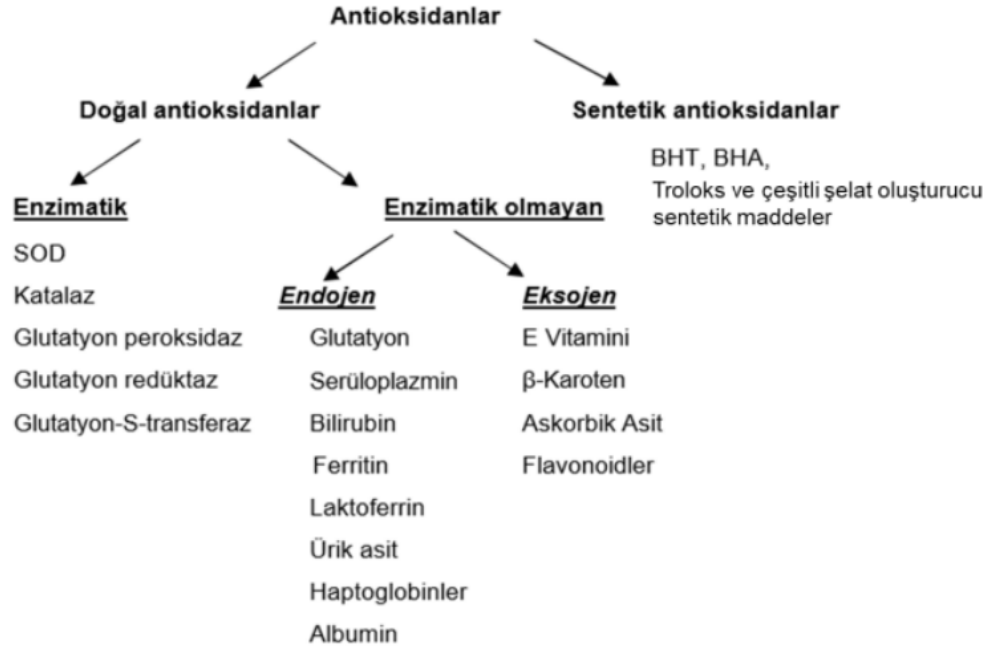
Piretroidlerin lipofilik olmalarından dolayı solungaçlar tarafından yüksek bir emilim oranına sahiptir ve bu da balıkların sulu piretroid maruziyetlerine karşı hassasiyetinde katkıda bulunan bir faktör olacaktır. Balıkların piretroidleri hidroliz eden enzim sistemleri yetersizdir. Balıklardaki metabolizma büyük oranda oksidatifdir (Demoute, 1989). Balıklar, solungaçlar yoluyla kendilerini çevreleyen suyla yakın temas halindedirler. Balıklara olan potansiyel tehlikesi birçok sucul sivrisinek larva öldürücü programındaki ağır kullanımı nedeniyle oluşur. Sonuç olarak nedeni belli ya da belli olmayan herhangi bir stresin, balıklarda immün, hormonal, antioksidan, hematolojik sistemi baskıladığı ve bunun uzun vadede balıkları adaptif savunmanın olabileceği ve zararları çalışmalarla gösterilmiştir (Yıldız vd., 2006; Yavuzcan vd., 2009; Yavuzcan ve Ergönül, 2010).

2.3 Antioksidan Enzimler

Antioksidan savunma sistemleri ya da antioksidanlar ROS oluşumunu engelleyerek bunların meydana getirdiği zararları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak için organizmadagörev yapan savunma sistemleridir. Serbest radikallerle hızlı bir şekilde reaksiyona giren antioksidanlar otooksidasyon peroksidasyonun ilerlemesini önleyen maddelerdir. Serbest radikallerin fazlasını etkisizleştirerek toksik etkilerine karşı hücreleri korumak ve hastalıkları önlemede katkı sağlamak antioksidanların en önemli görevidir (Dündar, 1999; Pham-Huy, 2008; Şener, 2009).

2.3.1 Antioksidanların sınıflandırılması

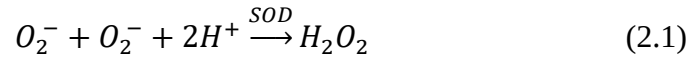
Aerobik canlılarda ROS'un yapmış olduğu hasarı önlemeye katkı sağlayan enzimatik ve nonenzimatik savunma sistemleri olan antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olarak ikiye ayrılır. Düşük konsantrasyonlarda reaktif oksijen ara ürünleri, hücre içi mesajlaşma ve mikroorganizmalara karşı savunma gibi işlemlerde yararlı ve hatta vazgeçilmez olabilir, ancak daha yüksek miktarlarda aktif oksijen, hücreler ve organizmalar için zararlı olabilir. Bu nedenle organizma oksidan-antioksaidan dengesini korumaya çalışır. Bu dengenin bozulması hücre zarı lipitleri, proteinler ve DNA gibi hücrenin önemli yaşamsal yapılarında bütünlüğün bozulmasına ve canlıda patolojik olayların gelişmesine yol açar. Antioksidan savunma bu dengeyi korumak için radikal metabolit üretimini önlerken üretilmiş olan radikallerinde temizlenmesine yardımcı olur. Ayrıca hücre deformasyonunun onarılmasına, endojen antioksidan kapasitenin artırılmasına ve ikincil radikal üreten reaksiyonların durdurulmasını sağlar (Akkuş, 1995). Antioksidanların sınıflandırılması Şekil 2.1' de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Antioksidanların sınıflandırılması.

2.3.2 Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1), serbest radikal süperoksidi peroksit'e dönüştürerek yok eder ve bu da CAT veya GSH-Px reaksiyonları ile yok edilebilir. SOD, yüksek derecede reaktif süperoksit radikalini daha az reaktif H_2O_2 'ye dönüştürür.



SOD'un diğer bir işlevi dehidratazları (dihidroksi asit dehidrataz, akonitaz, 6-fosfoglukonat dehidrataz ve fumaraz A ve B) serbest radikal süperoksit tarafından inaktivasyona karşı korumaktır.

Bir dinükleer Cu, Zn veya mononükleer Fe, Mn veya Ni kofaktörleri içeren dört SOD sınıfı tanımlanmıştır. İnsanlarda SOD'un sitosolik Cu-Zn-SOD (SOD 1), mitokondriyal Mn-SOD (SOD 2) ve hücre dışı-SOD (ECSOD-SOD 3) olmak üzere üç farklı izoformu vardır.

Cu, Zn-SOD (SOD-1), evrim boyunca korunan başka bir enzim sınıfıdır ve genellikle her biri bir bakır ve bir çinko atomu tarafından köprülenmiş bir metal küme içeren yaklaşık 32 kDa'lık iki özdeş alt birimi vardır. SOD 1 sitoplazmada, nükleer bölmelerde

ve lizozomlarda bulunur. SOD 1 geninde meydana gelen mutasyonların Down sendromu, Amniyotrofik Lateral Skleroz hastalıklarının rol oynadığı belirtilmektedir. Ayrıca tüm tümörlerde Mn-SOD bulunurken ve Cu, Zn-SOD ve Mn-SOD aktiviteleri arasındaki oran normal dokulardan farklı değildir. Tümörler metabolik olarak daha aktif dokulara göre daha az Cu, Zn-SOD içerir. Cu, Zn-SOD'un, hidrojen peroksit ve moleküler oksijen oluşturmak üzere süperoksit anyon radikallerinin parçalanmasını katalize ederek antioksidan savunmanın ilk hattında önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır.

SOD 2, Mn-SOD, süperoksitin iki aşamalı dismutasyonu sırasında Mn (III) 'den Mn (II)' ye ve tekrar Mn (III) 'e dönen alt birim başına bir manganez atomu içeren bir homotetramerdir (96 kDa). SOD 2 aerobik hücrelerin mitokondrisinde bulunur. SOD 2 hipokside, tüm oogeneziste ve hücre farklılaşmasında rol oynadığı belirtilmektedir. Ayrıca nadir görülen ailesel mgen mutasyonları olan motor nöron hastalıkları, erken yaşlanma ve idiyopatik kardiyomiyopati ile ilişkilendirilmektedir.

SOD 3, EC-SOD, 135,000 dalton ağırlığındadır ve SOD ailesinin en son tespit edilen üyesidir. SOD 3, dokuların interstisyel boşluklarında bulunan sekretuar, tetramerik, bakır ve çinko içeren bir glikoproteindir. SOD 3 ayrıca plazma, lenf ve sinoviyal sıvının SOD aktivitesinin çoğunu oluşturan hücre dışı sıvılarda bulunur.

2.3.3 Katalaz (CAT)

Katalaz (EC 1.11.1.6), 60 kDa'lık 4 özdeş dört yüzlü düzenlenmiş alt birimden oluşan bir tetramerik hememin enzimidir. Bu nedenle molekül başına 4 ferriprotoporfirin grubu içerir ve moleküler kütlesi yaklaşık 240 kDa'dır. Memelilerde ortalama molekül ağırlığı 250-270 kDa'dır. Katalaz, bilinen en etkili enzimlerden biridir. O kadar etkilidir ki, herhangi bir konsantrasyonda H_2O_2 ile doyurulamaz.

CAT, H donörleri (metanol, etanol, formik asit, fenol...) ile bir tür peroksidaz aktivitesinde 1 mol peroksit kullanarak su ve moleküler oksijen oluşturmak için H_2O_2 ile reaksiyona girer.

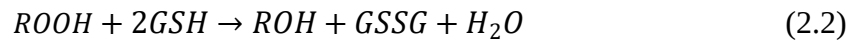
H_2O_2 , aerobik organizmada katalaz ve birkaç peroksidaz tarafından enzimatik olarak katabolize edilir. Hayvanlarda H_2O_2 , CAT ve GSH-Px ile detoksifiye edilir. Katalaz,

hücreleri içlerinde oluşan hidrojen peroksitten korur. CAT normal koşullar altında bazı hücre tipleri için gerekli olmasa da, hücrelerin adaptif yanıtında oksidatif strese tolerans kazanılmasında önemli bir rol oynar. Transfekte edilmiş zenginleştirilmiş katalaz hücrelerinin adriamisin, bleomisin ve parakuata karşı artan duyarlılığı, hücrelerdeki katalazın ilaçla indüklenen O₂ tüketimini önleme kabiliyetine atfedilir. Böylece, H₂O₂'yi hücreden kaçmadan önce yakalayıp O₂'ye çevirir. Bu şekilde, katalaz ya tekrarlanan kimyasal indirgeme turları için ya da toksin ile doğrudan etkileşim için O₂konsantrasyonunu koruyabilir. CAT peroksizomlarda, sitozolde ve mikrozomal fraksiyonlarda bulunmaktadır. SOD tarafından süperoksit radikalleri H₂O₂'ya dönüştürülür. CAT oluşan H₂O₂'yi su ve oksijene parçalayarak lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu rol oynamaktadır (Paller ve Patent, 1991). Hidrojen peroksit (H₂O₂) varlığında bir takım küçük substrat moleküllerine karşı peroksidatik aktivite gösteren CAT, üç gruba ayrılmaktadır. Bunlar monofonksiyonel hem katalazlar, katalaz-peroksidazlar ve Mn içeren katalazlar (Chelikani vd., 2004).

CAT, oksidatif stresin toksik etkilerinin araştırılmasında ve çevresel kirliliğin değerlendirilmesinde uygun bir biyokimyasal belirteçtir. Denizel kirliliğinin izlenmesine yönelik olarak, endüstriyel, kanalizasyon ve gemi trafiğinden kaynaklı atık suların boşaldığı limanlarda yaşayan *Myoxocephalus scorpius* türü balıkların karaciğerinde oksidatif stresin toksik etkileri araştırılmış ve CAT aktivitesinin temiz limanlardaki kontrol gruplarına göre (p<0.05) yüksek olduğu rapor edilmiştir (Stephensen vd., 2002).

2.3.4 Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

Selenyum içeren peroksidazlar, daha önemli bir örnek olan glutasyon peroksidaz (EC 1.11.1.19), glutasyon (GSH) kullanarak çeşitli hidroperoksitlerin (ROOH ve H₂O₂) indirgenmesini katalize ederek memeli hücrelerini oksidatif hasara karşı korur.



Molekül ağırlığı 80 kDa olan GSH-Px,enzim aktivitesi için gerekli olan dört özdeş alt birimin her birinde bir selenosistein kalıntısı içerir (Ding vd., 1998). GSH-Px, substrat H₂O₂'yi katalaz ile paylaşır. GSH-Px tek başına lipid ve diğer organik hidroperoksitler ile etkili bir şekilde reaksiyona girebilir. Glutasyon redoks döngüsü,

düşük seviyelerde oksidan strese karşı önemli bir koruma kaynağı iken, CAT şiddetli oksidan strese karşı korumada daha önemli hale gelir (Yan ve Harding, 1997). Hayvan hücrelerinde ve özellikle insan eritrositlerinde, CAT'ın H_2O_2 için GSH-Px'e göre çok daha düşük afinitesi olduğundan, H_2O_2 'nin detoksifikasyonu için temel antioksidan enzim uzun süredir GSH-Px olarak kabul edilmiştir (Izawa vd., 1996).

Memelilerde bulunan en az beş GSH-Px izoenzimi vardır. Ekspresyonları her yerde bulunmasına rağmen, her izoformun seviyeleri doku tipine bağlı olarak değişir. Hücre membranlarında, sitozol ve mitokondride bulunur (Deaton ve Marlin, 2003). Sitosolik ve mitokondriyal GSH-Px(c GSH-Px veya GSH-Px1), glutatyon kullanarak yağ asidi hidroperoksitlerini ve H_2O_2 'yi azaltır. GSH-Px1 ve fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz GSH-Px4 çoğu dokuda bulunur. GSH-Px4, hem sitozol hem de membran fraksiyonunda bulunur. GSH-Px4, peroksidize membranlarda ve oksitlenmiş lipoproteinlerde üretilen fosfolipid hidroperoksitler yağ asidi hidroperoksitleri ve kolesterol hidroperoksitleri doğrudan indirgeyebilir. GSH-Px1, ağırlıklı olarak eritrositlerde, böbrekte ve karaciğerde bulunur. GSH-Px4 renal epitel hücrelerinde ve testislerde yüksek oranda eksprese edilir. Sitosolik GSH-Px2 ve hücre dışı GSH-Px3, sırasıyla gastrointestinal sistem ve böbrek dışında çoğu dokuda zayıf bir şekilde tespit edildi. Son zamanlarda, özellikle fare epididiminde ifade edilen yeni bir üye olan GSH-Px5 ilginç bir şekilde selenyumdan bağımsızdır (Haan vd., 1998).

Ayrıca GSH-Pxenziminin selenyum bağımlı ve selenyum bağımsız olmak üzere iki izoformu vardır. Se-bağımlı GSH-Px enzimi, H_2O_2 ve lipid peroksitlerine (ROOH) karşı aktiftir. Se eksikliği GSH-Px aktivitesinde azalmaya, dolayısıyla lipid peroksidasyonunda artışlara yol açmaktadır. H_2O_2 'e karşı ihmal edilebilir bir aktivite gösteren Se-bağımsız GSH-Px ise sadece lipid peroksitlerinin temizlenmesinden sorumludur. Bu grup enzimler GST olarak adlandırılır (Bao ve Williamson, 1996; Terada, 2005).

2.3.5 Lipid peroksidasyon (LPO)

Balıklar reaktif oksijen türlerine karşı çok hassas canlılardır (Trenzado vd., 2006). Söz konusu oksijen türleri normal fizyolojik durumlarda ortaya çıkan (mitokondriyal elektron taşınması, peroksizomal yağ asidi metabolizması, sitokrom P-450

reaksiyonları ve fagositik hücrelerin solunum patlama aktivitesi) mekanizmalar sonucu oluşabileceği gibi çeşitli kimyasallar ve birçok balık hastalığının patogenezi gibi dış faktörlerden de kaynaklanabilir (Kumar vd., 2014). Reaktif oksijen türlerinin olağandışı üretimi hücre duvarı fosfolipitlerinin veya çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olur. Hücre duvarı fosfolipitleri zarar gördüğünde azalmış membran akışkanlığı, artan membran geçirgenliği, hücre duvarındaki bağlayıcı enzimlerin inaktivasyonu ve esansiyel yağ asitlerinin kaybı gibi istenmeyen durumlar ortaya çıkar (Şener vd., 2005). Bu nedenle LPO düzeylerinin artması oksidatif hasarın önemli bir işareti olarak değerlendirilir (Barzilai ve Yamamoto, 2004). Dolayısıyla balıklardaki oksidatif hasar tiyobarbiturik asit reaktif maddeleri (TBARS) ve malondialdehit (MDA) gibi lipid peroksidasyonu yan ürünlerinin ölçülmesiyle tespit edilebilir (Valavanidis vd., 2006; Çeribaşı vd., 2012). Serbest radikal hasarının birincil ve ikincil ürünlerinin biyolojik belirteç olarak kullanılması, çevrenin oksidatif basıncının izlenmesi için uygundur. En yaygın olarak kullanılan biyobelirteçler, aldehit olarak lipid peroksidasyon ürünleri, özellikle malondialdehit (MDA), ketonlar ve çoklu doymamış yağ asitlerinden dien konjugasyonunun belirlenmesidir (Valavanidis vd., 2006). Malondialdehit, çoklu doymamış yağ asitlerinin ana ikincil lipid oksidasyon ürünüdür. MDA'nın hücre membranlarının geçirgenliğini arttırdığı, membranların iyon alışverişine etki ederek hücre içi iyon dengesini bozduğu, enzim aktivitelerinin bozulmasına, DNA'nın yapısında kırılmalara ve baz değişimlerine neden olduğu bildirilmektedir. Ayrıca MDA düzeylerindeki artış serbest radikal üretimini arttırmakta ve antioksidan aktiviteyi azaltmakta ve bunun neticesinde antioksidanlar ile serbest radikaller arasındaki dengenin bozulmasına neden olarak endotel disfonksiyonu ve neticesinde ateroskleroza neden olabileceği bilinmektedir (Halliwell, 2015; Sargowo, 2018).

2.4 *Cyprinus carpio* L. 1758

Omurgalı hayvanlar arasında tür sayısı bakımından balıklar en kalabalık gruptur. Dünyadaki balık aileleri içinde en fazla türe sahip aile sazangillerdir (Cyprinidae). Sazangiller yaklaşık olarak 5000 türe sahiptir. Çalışmamızda kullandığımız *Cyprinus carpio*'nun sistematigi şu şekildedir:

Alem	: Animalia (=Hayvanlar)
Şube	: Chordata (= Kordalılar)
Altşube	: Vertebrata (= Omurgalılar)
Sınıf	: Actinopterygii = (Osteichthyes)
Takım	: Cypriniformes (Sazangiller)
Aile	: Cyprinidae (Sazanlar)
Cins	: <i>Cyprinus</i>
Tür	: <i>Cyprinus carpio</i> Linnaeus, 1758

Ilıman iklim bölgelerine adapte olmuş sazan (*Cyprinus carpio*) ekonomik değeri yüksek bir tatlı su balığı türüdür. Geniş sıcaklık (3-28°C) ve oksijen (2-7,5ppm) toleransına sahip olup yetiştiricilikte fazlaca tercih edilebilmektedir.

Sazan (*Cyprinus carpio*) balığı sportif amaçlı avcılıkta da tercih edilmektedir. Vatanı Asya olup 12. yüzyıldan sonra Avrupa ve Amerika'nın tatlı sularında üretilmiştir. Ayrıca balık yetiştiriciliğinde de önemli yer tutar. Omnivor beslenmeye adapta olmuş, solucan, böcek larvaları ve bitkilerle beslenir. Boyları 1 metreden fazla olup ağırlığı 30 kg'dan fazla olanları da vardır.

Cyprinus carpio yetiştiriciliği bu kadar eski olmasına rağmen, yapay yöntemle yavru üretimi ancak 1933-1937 yıllarında Alman bilim adamı Probst tarafından başarılabılmıştır. Bu yöntem daha sonraları hipofiz enjektesi ile tam kontrollü döl almayı mümkün kılan bir duruma Macar bilim adamı Woynarovich tarafından getirilmiştir. Şekil 2.2' de *Cyprinus carpio* gösterilmiştir.



Şekil 2.2. *Cyprinus carpio* (URL-4).

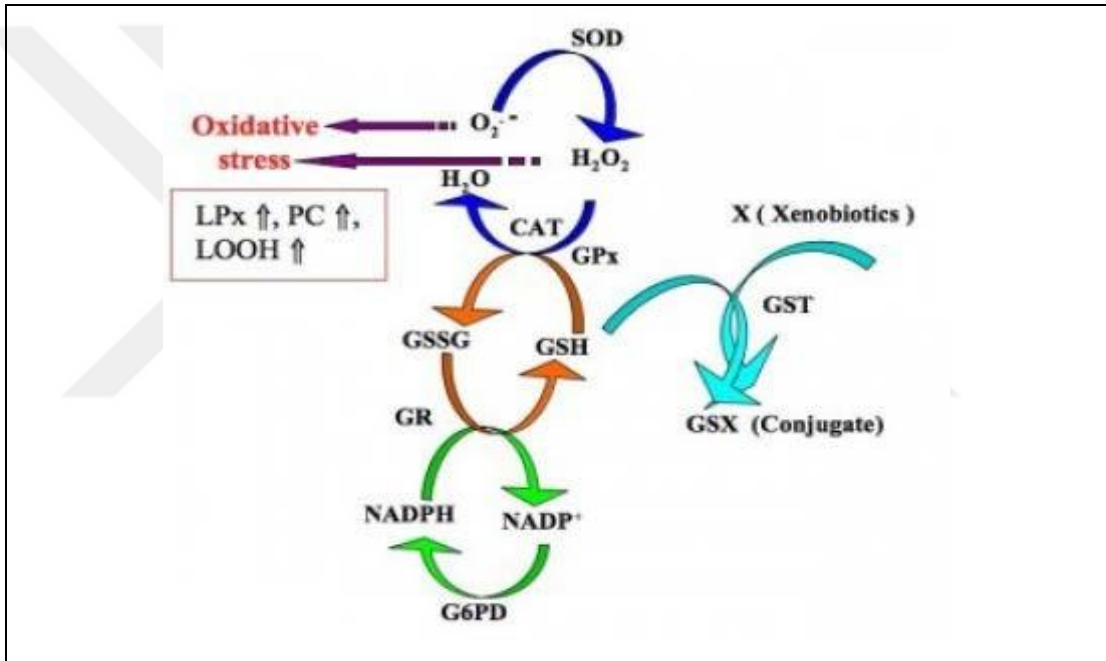
2.4.1 Pestisitlerin balıklar üzerindeki etkileri

Pestisitlerin balıklar üzerindeki etkileri değişik şekillerde görülebilmektedir. Pestisitlerin etkisi doğrudan öldürme olabileceği gibi yumurta bırakmayı ve üremeyi durdurmak nedeniyle de balık popülasyonu üzerinde etkili olabilmektedirler. Ayrıca pestisitler dokularda meydana getirdikleri deformasyon ile balıklarda duyarlılığa yol açarak mevsimlik ısı değişimlerinden ve geçici açlıktan gereğinden fazla etkilenmelerine neden olabilmektedir (Atamanalp ve Yanık, 2001). Pestisitler balıklarda halsizliğe, yüzme davranışında değişikliğe neden olarak av olma, beslenme becerilerini azaltma, durumunu koruma ve alanlarını koruma konusunda sıkıntı oluşturmaktadır (Prashanth vd., 2011). Pestisitler göç balıklarında göç davranışlarının da değişmesine neden olarak balıkların göç kabiliyetini etkilemekte ve yaşam döngüsünü değiştirmektedir (Gohel ve Dodia, 2015). Akutik kirlilik göç eden somon balıklarının göç davranışlarını değiştirmekte ve bunun sonucunda yumurta bırakma olayının ertelenmesine sebep olmaktadır (Satyavardhan, 2013). Antioksidan sistem üzerinde dokuya özgü olan bu değişiklikler farklı balıklarda beyin, solungaç, böbrek, akciğer, kas gibi iç organlardadır ve değişik sonuçlar göstermektedir. Sonuç olarak; doğal su ortamının kimyasal bileşimdeki değişiklikler bu çevredeki sakinlerin en çok da balıkların davranışsal ve fizyolojik sistemlerini etkilemektedir.

2.4.2 Balıklarda antioksidan savunma sistemi

Balıklar tıpkı diğer omurgalılar gibi yağ, protein ve DNA gibi hücresel moleküllere oksidatif hasar veren ve nihayetinde hücre ölümüyle sonuçlanan hidrojen peroksit ve reaktif oksijen türlerinin oluşturduğu etkileri önlemekle görevli olan bir antioksidan savunma sistemine sahiptir (Holmblad ve Söderhäll, 1999; Yonar ve Sakin, 2011). Bu sistem SOD, CAT, GSH-Px, GST, G6PDH, GR gibi bir dizi enzim (Blahová vd., 2013) ve redükte glutatyon (GSH) gibi enzimatik olmayan (moleküler) unsurları içerir (Droge, 2002). Bu enzimatik ve non-enzimatik sistemlerin temel amacı serbest radikalleri temizlemek ve oksidatif hasara yol açan reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu engellemektir (Pandey vd., 2003; Li vd., 2009). Bu nedenle bu moleküller bağlantılı fonksiyonlara sahiptirler ve ROS oluşumuna karşı birlikte hareket ederler (Özmen vd., 2004). Antioksidanlar ve oksidanların miktarlarında, enzim aktivitelerinin azalmasından ve/veya aşırı miktarda ROS birikmesinden dolayı

meydana gelen dengesizlik nedeniyle bir organizmadaki reaktif oksijen türleri ve antioksidan mekanizması arasındaki orantısızlığa oksidatif stres adı verilir (Monteiro vd., 2006; Valavanidis vd., 2006). Bu nedenle oksidatif stres parametreleri balıklarda antioksidan savunma sisteminin durumunu tespit etmek maksadıyla kullanılmaktadır (Sturve vd., 2005). Balıklarda antioksidan savunma sistemi (Şekil 2.3) beslenme alışkanlığı ve besin maddeleri ile ilişkilidir. Antioksidan savunma mekanizmaları genelde karaciğer dokusunda böbrek ve beyin gibi diğer dokulardan daha güçlü sergilenmektedir (Li vd., 2009). Antioksidan enzimler balık sağlığını değerlendirmek amacıyla stres ve immün yanıt biyobelirteçleri olarak nitelendirilmektedir (Sagstad vd., 2007).



Şekil 2.3. Antioksidan savunma sistemi (Sahoo, 2011).

Oksijen, moleküler halindeki O_2 , aerobik yaşam için hayati önem taşıyan birçok metabolik süreç için gereklidir. Aerobik organizmalar oksijensiz var olamazlar, ancak bu yine de doğaları gereği yaşamları için tehlikelidir. Tüm aerobik organizmalar gibi, balıklar da reaktif oksijenin etkilerine karşı hassastır ve literatürde iyi tanımlanmış doğal ve etkili antioksidan savunmalarına sahiptir (Martínez-Álvarez vd., 2005). Katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) gibi özel olarak uyarlanmış enzimler ve glutatyona (glutasyon peroksidaz, GPX ve glutasyon redüktaz, GR) bağlı enzimler, bugüne kadar araştırılan çoğu balık türünde tespit edilmiştir (Rudneva, 1997). Bu enzimlerle birlikte, balıklarda antioksidan savunmada karotenoidler, E, K

ve C vitaminleri, amino asitler ve peptitler (glutasyon) gibi düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlar tespit edilmiştir.

Rudneva'ya (1997) göre, Karadeniz'den ilkel bir elasmobranch olan köpek balıklarının (*Squalus acanthias*) eritrositlerinde CAT aktivitesinde bir eksiklik ve çok az SOD aktivitesi vardır ve bu balığın ilkel bir antioksidan sisteme sahip olduğunu düşündürmektedir. Rudneva (1997) bu elasmobranchta bulunan yüksek düzeydeki üre, glutasyon ve K vitamininin sınırlı enzimatik antioksidan sistemi telafi edebileceğini bildirmektedir. Bu türdeki CAT aktivitesindeki bildirilen eksiklik, serumdaki lipid peroksidasyon seviyeleri ile ilişkilidir ve CAT aktivitesi olan diğer teleostlarda bulunanlardan daha yüksektir (Rudneva, 1997). Diğer karşılaştırmalı çalışmalar, balıklarda CAT, SOD ve GPX aktivitelerinin memelilere ve kuşlara göre daha düşük olduğunu göstermiştir (Izokun-Etiobhio vd., 1990; Pe´rez-Campo vd., 1993; Rocha-e-Silva vd., 2004).

Bu çalışmada dünya genelinde sıkça kullanılan permethrinin [(3-fenoksifenil) metil 3- (2,2-dikloroetilen) -2,2-imetilsiklopropan karboksilat] sazan balıklarının karaciğer ve solungaç dokularında antioksidan aktivite üzerine etkilerinin farklı doz ve sürelerdeki değişiminin incelenmesi amaçlanmıştır.

3. MALZEME VE YÖNTEM

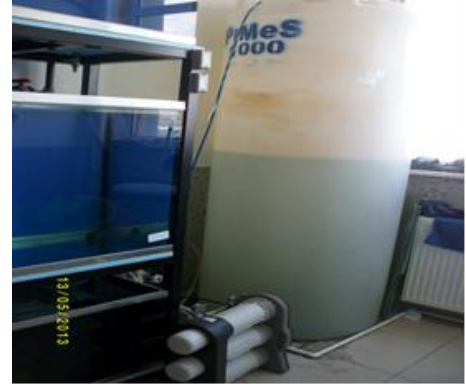
3.1 Materyal

3.1.1 Deneyde kullanılacak hayvanlar ve temini

Deney çalışmasında kullanılan sazan balıkları Yedikır Su Ürünleri İstasyonunda hibe yolu ile temin edilmiştir. Balıklar 150 L'lik akvaryumlara konularak 14 gün boyunca ortama adaptasyonları sağlanmıştır. Balıklar adaptasyon süresince pelet yemle beslenmiştir. Deneyde kullanılan balıkların bir yaşından küçük, ortalama ağırlıkları 50-60 g ve ortalama uzunlukları ise 12-14 cm olarak belirlenmiştir.

3.1.2 Deney akvaryumları ve düzeneği

Çalışmada filtreden geçirilerek kaba atıklarından arındırılan şehir şebeke suyu kullanılmıştır. Depoda üç gün bekletilip dinlendirildikten sonra pH, çözünmüş oksijen ve klor oranı ayarlanan su pompalar aracılığıyla akvaryumlara aktarılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Akuatik Toksikoloji Laboratuvarı Akvaryum Sistemi (Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Merkezi Araştırma Laboratuvarı).

Akvaryumlara alınan su üç gün bekletilirken hava filtreleri çalıştırılmış ve ortamın çözünmüş oksijen miktarı ve pH'ı ayarlanmıştır. Daha sonra balıklar akvaryum suyuna alınmıştır. Her akvaryuma 7 balık eklenmiştir. Çizelge 1'deki deney grupları dikkate alındığında her bir grupta 7 balık (N:7 adet) olmak üzere akut ve subkronik fazda toplam 56 adet balık kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Deney grupları.

4 gün	N	21 gün	N
1.Grup: Kontrol Grubu	7	1.Grup: Kontrol Grubu	7
2.Vehicle (Aseton1ml/150L)	7	2.Vehicle (Aseton1ml/150L)	7
3.Grup: <i>PER</i> (10 ppm)	7	3.Grup: <i>PER</i> (10 ppm)	7
4.Grup: <i>PER</i> (20 ppm)	7	4.Grup: <i>PER</i> (20 ppm)	7

Kontrol grubu ve doz gruplarında deney öncesi ve sonrası akvaryum su kalite kriterlerinde [(sıcaklık (12,4-12,7), pH (7,5-7,6), çözünmüş O₂ (7,2-7,5) ve sertlik (142,2-143,7)] meydana gelen değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Bu çalışma ve analizler Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi Akuatik Toksikoloji Akvaryum Sistemi Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir (Şekil.3.2).



Şekil 3.2. Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi.

3.1.3 Doku materyallerin alınması

Deneyde her gruptan 7'şer balığın dokuları (Karaciğer ve solungaç) diseksiyon yöntemiyle alüminyum folyolara alınarak analiz edilinceye kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir. Antioksidan analiz için solungaç ve karaciğer doku parçaları alınarak etiketlenmiştir.

3.2 Yöntem ve Analiz

3.2.1 Antioksidan enzim aktivite tayinleri

Elde edilen dokulardaki total protein miktar tayinlerinde Bradford Metodu (Kruger, 2009) uygulanmıştır. Total protein miktarları hesaplandıktan sonra, solungaç ve karaciğer doku homojenatlarında MDA miktarının belirlenmesi Beuge ve Aust (1978) yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Enzim aktivitelerinin çalışılabilmesi için hazırlanan doku homojenatlarından elde edilen supernatanlarda ise CAT aktivitesi Luck (1963), GSH-Px aktivitesi Lawrance ve Burk (1976) ve SOD enzim aktivitesi ise McCord ve Frivovich (1969) metodlarına göre yapılmıştır.

3.2.1.1 Katalaz aktivite tayini

Karaciğer ve solungaç süpernatant örneklerinde katalaz enziminin aktivite tayini Luck yönteminde bazı modifikasyonlar yapılarak saptandı. Bu yöntem için gerekli olan çözeltiler aşağıda verilmiştir.

- 1/15 M Na-K fosfat tamponu (Na₂HPO₄-KH₂PO₄) pH 7.
- Derişik (% 35) H₂O₂ çözeltisi

Hazırlanan Na-K-fosfat tamponunun 100 mL'sine, 160 µL derişik H₂O₂ çözeltisi pipetlendi. Oluşan bu çözeltiden 1000 µL alınıp kör olarak kullanıldı. Karaciğer ve solungaç dokularında katalaz aktivitesini belirlemek için yine aynı karışımdan 1000 µL alınıp kuarz küvete pipetlendi ve üzerine karaciğer dokularında 5 µL, solungaç dokularında 20 µL, eklendi. Küvet bir kez karıştırılıp Shimadzu UV-1601 UV/VIS spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda (30 sn. boyunca) absorbans değişimi okundu. Elde edilen bu optik dansite farkından mL'deki enzim ünite sayısı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$C = \frac{\Delta OD \times 1 \text{ dk} \times 1000}{0,036 \times \mu\text{L süpernatant}} \quad (3.1)$$

3.2.1.2 Se-Bağımlı glutatyonperoksidaz aktivite tayini

Karaciğer ve solungaç süpernatant örneklerinde GSH-Px enziminin aktivitesi Lawrence ve Burk yönteminde bazı modifikasyonlar yapılarak ölçüldü. Bu yöntem için gerekli olan çözeltiler aşağıda verilmiştir.

- mM EDTA içeren 50 mM K-fosfat tamponu (KH_2PO_4 - K_2HPO_4) pH 7.0
- NaN_3 (Sodyum azid) : 1 mM
- H_2O_2 : 2.5 mM
- NADPH : 2 mM
- GSH (Redükteglutatyon) : 2 mM
- GSSG Redüktaz : 5 U/mL

Kör için 1 mL tampon, 30 μL NADPH, 30 μL GSH, 30 μL NaN_3 ve 60 μL GSSG redüktaz çözeltileri kuarz küvete pipetlendi. 37 °C’de 5 dk. inkübasyona bırakılan küvete 20 μL H_2O_2 pipetlendi ve Shimadzu UV-1601 UV/VIS spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda (1 dk. boyunca) absorbans değişimi okundu. Karaciğer ve solungaç dokuları için 10 μL süpernatant pipetlendikten sonra kör örnekteki gibi inkübasyona bırakıldı ve 340 nm dalga boyundaki absorbans değişimi okundu. Elde edilen bu optik dansite farkından mL’deki enzim aktivite tayini aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$C = \frac{\Delta OD}{6220/\text{ml}} \quad (3.2)$$

3.2.1.3 Süperoksit dismutaz aktivite tayini

Karaciğer ve solungaç süpernatant örneklerinde SOD enziminin aktivite tayini McCord ve Fridovich’e göre yapıldı . Bu yöntem ksantin-ksantinoksidaz (XO) sisteminde üretilen süperoksit radikallerinin sitokrom C indirgemesinin, SOD enzimi tarafından inhibisyonu temeline dayanmaktadır. Bu yöntemde 1 ünite SOD aktivitesi, sitokrom C redüksiyonunu %50 oranında inhibe eden enzim miktarı olarak

tanımlanmaktadır. Enzim aktivite tayininde absorbands değışimi 550 nm’de 75 saniye boyunca ölçölmüştür. Yöntem için gerekli olan çözeltiler aşağıda verilmiştir.

- A) Fosfat tamponu : 216mM, pH 7.8
B) EDTA : 10.7mM
C) Sitokrom C : 1.1mM
D) Ksantin : 0.108 mM
E) Ksantinoksidaz : 0.05 U/mL (2 M’lık (NH₄)₂SO₄ çözeltisi ile hazırlandı)

SOD enzim aktivitesinin tayininde kullanılacak olan reaksiyon karışımı/reaktif 30 örnek ölçümü için toplam hacim 100 mL olacak şekilde aşağıda belirtilen çözelti oranları kullanılarak oluşturuldu.

- Deiyonize su : 23mL
- A çözeltisi : 25mL
- B çözeltisi : 1mL
- C çözeltisi : 1mL
- D çözeltisi : 50 ml

SOD enzim aktivitesinin tayininde Çizelge 3.2’de gösterilen oranlar kullanılarak ölçüm yapılmıştır.

Çizelge 3.2. SOD aktivite tayininde kullanılan çözelti miktarları.

	Kontrol	Örnek	Kör
Reaktif	2.8 mL	2.8 mL	2.8 mL
Deiyonize su	0.1 mL	---	0.2 mL
E (Ksantinoksidaz)	0.1 mL	0.1 mL	---
Örnek süpernatant	---	0.1 mL	---

SOD aktivitesi sonucu örneklerde oluşan yüzde inhibisyon aşağıdaki formöl ile hesaplandı.

$$\%inhibisyon = \frac{(A_{kör} - A_{örnek})}{A_{kör}} \times 100 \quad (3.3)$$

3.2.1.4 Lipit peroksidasyon aktivitesinin belirlenmesi

Karaciğer ve solungaç homojenatlarında lipit peroksidasyonunun en önemli göstergesi olan MDA düzeylerinin ölçümü Buege ve Aust'a göre yapıldı . Bu yöntem için gerekli olan çözeltiler aşağıda verilmiştir.

- % 15'lik Trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi : 1 hacim
- % 0.375'lik Tiobarbiturik asit (TBA) çözeltisi : 1 hacim
- 0.25 N'likHCl çözeltisi : 1 hacim

Yukarıdaki üç çözeltinin belirtilen hacim oranlarının karıştırılmasıyla lipit peroksidasyonu analizinde kullanılacak çözelti hazırlandı.

Karaciğer ve solungaç homojenatlarında MDA seviyelerinin tayini aşağıda verilmiştir.

- 10 mL'lik santrifüj tüplerine hazırlanan çözeltiden 4 mL pipetlendi.
- Örnek tüplerine 1 mL homojenat pipetlendi.
- Tüpler vortekslendi.
- Örnekler kaynar suda (95-100 °C) 15 dk. inkübe edildi.
- Örnekler bir süre oda sıcaklığında bekletildikten sonra su içerisinde soğutuldu ve 3500 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi.
- Süpernatantların 535 nm dalga boyundaki absorbansları Shimadzu UV-1601 UV/VIS spektrofotometre ile okundu.

MDA miktarları aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı. MDA-TBA kompleksi için molarabsorbans katsayısı; ϵ : $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

$$C = \frac{OD}{1,56 \times 10^5} \times \frac{\text{Toplam Hacim}}{\text{Örnek Hacmi}} \quad (3.4)$$

3.2.2 İstatistiksel analiz

Araştırma sonunda elde edilen verilerin istatistiksel analizi grupların doz ve zamana göre karşılaştırılması 24.0 SPSS paket programında çift yönlü varyans analizi (two-way ANOVA) modeli uygulanarak elde edilmiştir ($p < 0,05$).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmamızda PER'in iki farklı dozuna (10 ppm ve 20 ppm) iki farklı sürede (4 gün ve 21 gün) maruz kalmış sazan balıklarının antioksidan parametrelerinde meydana gelen değişiklikler araştırılmıştır.

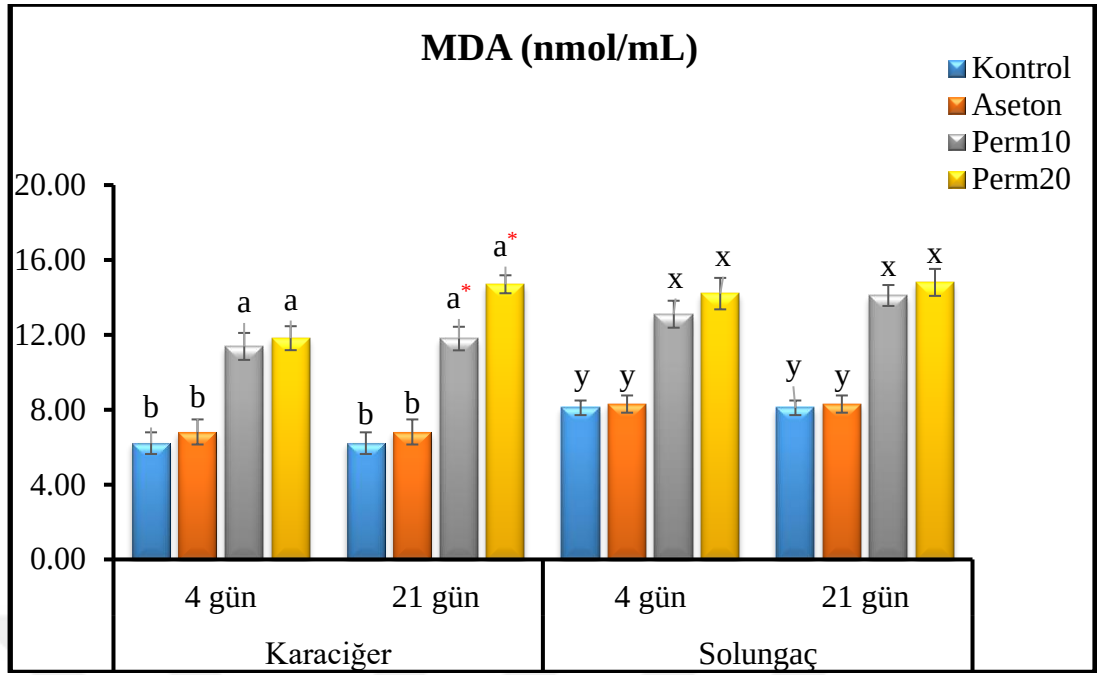
4.1 Malondialdehit Bulguları

PER ile indüklenmiş sazan balıklarının karaciğer ve solungaç dokularında, 4 ve 21 gün sürelerde MDA seviyeleri kontrol grubuna göre Per10 ppm ve Per20 ppm doz gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış göstermiştir ($p<0.05$). Kontrol aseton doz grubu ile kontrol grubu MDA seviyeleri bakımından benzer bulunmuştur ($p>0.05$). Süreler arası karşılaştırmada ise karaciğer dokuda hem Per10 hemde Per20 doz grubunda artan MDA seviyeleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$) (Çizelge 4.1., Şekil 4.1).

Çizelge 4.1. Farklı doz gruplarında (Per10 ppm ve Per20 ppm) ve sürelerde (4 ve 21 gün) MDA'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio*'nun solungaç ve karaciğer verileri.

Gruplar	MDA (nmol/ml)			
	Karaciğer		Solungaç	
	4 gün	21 gün	4 gün	21 gün
Kontrol	6.21±0.58 ^b	6.21±0.58 ^b	8.10±0.39 ^y	8.16±0.39 ^y
Aseton	6.81±0.67 ^b	6.81±0.67 ^b	8.30±0.46 ^y	8.30±0.46 ^y
Per10	11.38±0.72 ^a	13.80±0.63 ^{a*}	13.10±0.72 ^x	14.10±0.56 ^x
Per20	11.82±0.64 ^a	14.70±0.48 ^{a*}	14.20±0.84 ^x	14.80±0.72 ^x

[a.b.]: karaciğer dokuda [x.y.]: solungaç dokuda gruplar arası istatistiksel farkı göstermektedir (n:7);
* süreler arası istatistiksel farkı göstermektedir ($p<0.05$).



[a.b.]: karaciğer dokuda [x.y.]: solungaç dokuda gruplar arası istatistiksel farkı göstermektedir (n:7);
 * süreler arası istatistiksel farkı göstermektedir (p<0.05).

Şekil 4.1. PER'in sazan balıklarının (*Cyprinus carpio* L. 1758) karaciğer ve solungaç dokuda malondialdehit (MDA) seviyeleri üzerine etkileri.

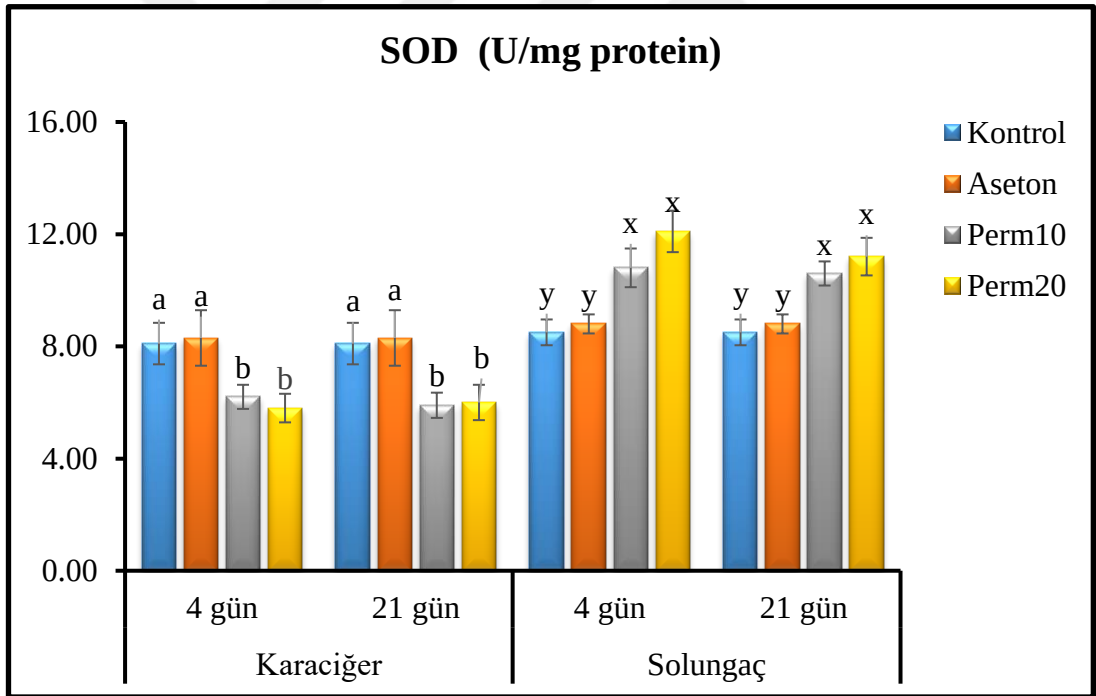
4.2 Süperoksit Dismutaz Bulguları

PER ile indüklenmiş sazan balıklarının karaciğer ve solungaç dokularında, 4 ve 21 gün sürelerde SOD aktiviteleri kontrol grubuna göre Per10 ppm ve Per20 ppm doz gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış göstermiştir (p<0.05). Kontrol aseton doz grubu ile kontrol grubu SOD aktiviteleri bakımından benzer bulunmuştur (p>0.05). Süreler arası karşılaştırmada ise ise her iki dokuda ve tüm doz grupları arasında istatistiksel bir fark yoktur (p>0.05) (Çizelge 4.2., Şekil 4.2).

Çizelge 4.2. Farklı doz gruplarında (Per10 ppm ve Per20 ppm) ve sürelerde (4 ve 21 gün) SOD'ya maruz kalmış *Cyprinus carpio*' nun solungaç ve karaciğer verileri.

Gruplar	SOD (U/mg protein)			
	Karaciğer		Solungaç	
	4 gün	21 gün	4 gün	21 gün
Kontrol	8.10±0.74 ^a	8.10±0.74 ^a	8.50±0.46 ^y	8.50±0.46 ^y
Aseton	8.03±0.99 ^a	8.03±0.99 ^a	8.80±0.34 ^y	8.80±0.34 ^y
Per10	6.20±0.43 ^b	5.90±0.45 ^b	10.80±0.69 ^x	10.60±0.43 ^x
Per20	5.80±0.51 ^b	6.00±0.63 ^b	12.10±0.74 ^x	11.20±0.67 ^x

[a.b.]: karaciğer dokuda [x.y.]: solungaç dokuda gruplar arası istatistiksel farkı göstermektedir (n:7);
* süreler arası istatistiksel farkı göstermektedir (p<0.05).



[a.b.]: karaciğer dokuda [x.y.]: solungaç dokuda gruplar arası istatistiksel farkı göstermektedir (n:7);
* süreler arası istatistiksel farkı göstermektedir (p<0.05).

Şekil 4.2. PER'in sazan balıklarının (*Cyprinus carpio* L. 1758) karaciğer ve solungaç dokuda süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri üzerine etkileri.

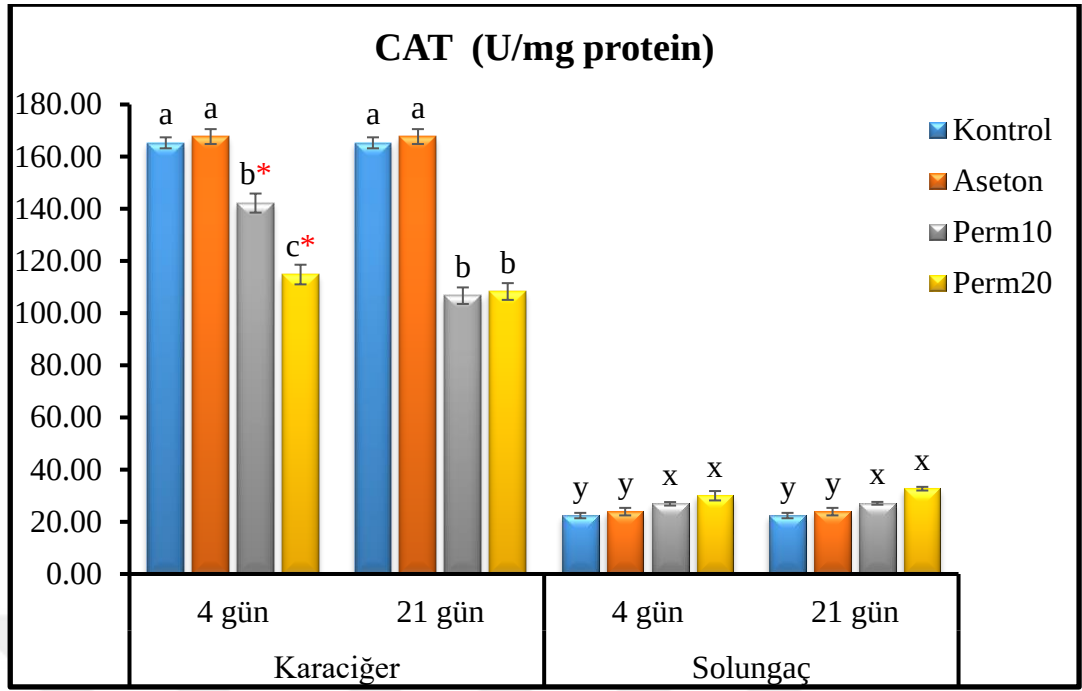
4.4 Katalaz Bulguları

PER ile indüklenmiş sazan balıklarının karaciğer ve solungaç dokularında, 4 ve 21 gün sürelerde CAT aktiviteleri kontrol grubuna göre Per10 ve Per20 doz gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış göstermiştir ($p<0.05$). Kontrol aseton doz grubu ile kontrol grubu CAT aktiviteleri bakımından benzer bulunmuştur ($p>0.05$). Süreler arası karşılaştırmada ise karaciğer dokuda per10 ve per20 doz gruplarında subkronik sürede CAT aktivitelerindeki azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.3., Şekil 4.3).

Çizelge 4.3. Farklı doz gruplarında (Per10 ppm ve Per20 ppm) ve sürelerde (4 ve 21 gün) CAT'a maruz kalmış *Cyprinus carpio*' nun solungaç ve karaciğer verileri.

Gruplar	CAT (U/mg protein)			
	Karaciğer		Solungaç	
	4 gün	21 gün	4 gün	21 gün
Kontrol	165.30±2.11 ^a	165.30±2.11 ^a	22.40±1.03 ^y	22.40±1.03 ^y
Aseton	167.70±2.86 ^a	167.70±2.86 ^a	23.90±1.44 ^y	23.90±1.44 ^y
Per10	142.20±3.66 ^{b*}	106.70±3.87 ^b	26.90±0.67 ^x	27.10±0.54 ^x
Per20	114.80±5.30 ^{c*}	108.30±3.21 ^b	30.00±1.80 ^x	32.70±0.70 ^x

[a.b.c.]: karaciğer dokuda [x.y.]: solungaç dokuda gruplar arası istatistiksel farkı göstermektedir (n:7);
* süreler arası istatistiksel farkı göstermektedir ($p<0.05$).



[a.b.c.]: karaciğer dokuda [x.y.]: solungaç dokuda gruplar arası istatistiksel farkı göstermektedir (n:7);
 * süreler arası istatistiksel farkı göstermektedir (p<0.05).

Şekil 4.3. PER'in sazan balıklarının (*Cyprinus carpio* L. 1758) karaciğer ve solungaç dokuda katalaz (CAT) aktiviteleri üzerine etkileri.

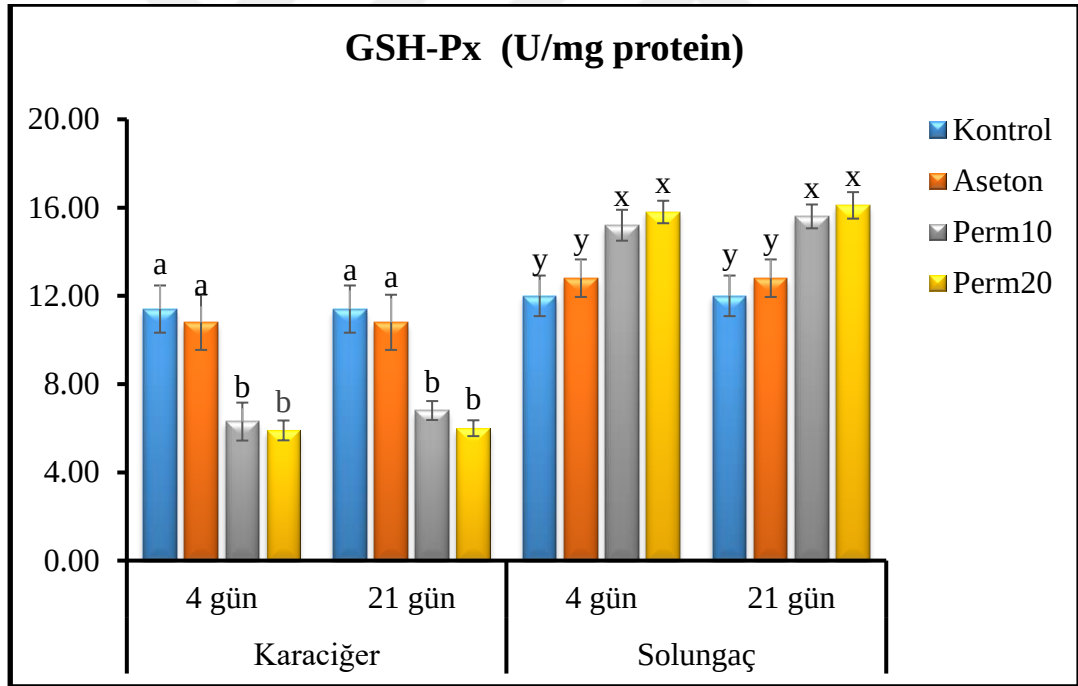
4.5 Glutasyon Peroksidaz Bulguları

PER ile indüklenmiş sazan balıklarının karaciğer ve solungaç dokularında, 4 ve 21 gün sürelerde GSH-Px aktiviteleri kontrol grubuna göre Per10 ppm ve Per20 ppm doz gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış göstermiştir (p<0.05). Kontrol aseton doz grubu ile kontrol grubu GSH-Px aktiviteleri bakımından benzer bulunmuştur (p>0.05). Süreler arası karşılaştırmada ise her iki dokuda ve tüm doz gruplarının kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (p>0.05) (Çizelge 4.4., Şekil 4.4).

Çizelge 4.4. Farklı doz gruplarında (Per10 ppm ve Per20 ppm) ve sürelerde (4 ve 21 gün) GSH-Px'za maruz kalmış *Cyprinus carpio*'nun solungaç ve karaciğer verileri.

Gruplar	GSH-Px (U/mg protein)			
	Karaciğer		Solungaç	
	4 gün	21 days	4 gün	21 days
Kontrol	11.40±1.07 ^a	11.40±1.07 ^a	12.00±0.92 ^y	12.04±0.92 ^y
Aseton	10.80±1.25 ^a	10.90±1.25 ^a	12.80±0.85 ^y	12.80±0.85 ^y
Per10	6.30±0.86 ^b	6.80±0.43 ^b	15.2±0.70 ^x	15.60±0.54 ^x
Per20	5.90±0.45 ^b	6.00±0.36 ^b	15.80±0.51 ^x	16.1±0.60 ^x

[a.b.]: karaciğer dokuda [x.y.]: solungaç dokuda gruplar arası istatistiksel farkı göstermektedir (n:7);
* süreler arası istatistiksel farkı göstermektedir (p<0.05).



[a.b.]: karaciğer dokuda [x.y.]: solungaç dokuda gruplar arası istatistiksel farkı göstermektedir (n:7);
* süreler arası istatistiksel farkı göstermektedir (p<0.05).

Şekil 4.4. PER'in sazan balıklarının (*Cyprinus carpio* L. 1758) karaciğer ve solungaç dokuda glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri üzerine etkileri.

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Bu gün bir çok kimyasal madde ve pestisitlerin sucul canlılarda yüksek düzeyde oksidatif strese neden olduğu bilinmektedir (Monteiro vd., 2006). MDA, lipit peroksidasyonun göstergelerindendir. Değişik balık türlerinin pestisit uygulaması ile yapılan çalışmalarda farklı doz ve sürelerle bağlı olarak MDA düzeylerinde artışlar olduğu rapor edilmiştir (Slaninova vd., 2009).

Oruç vd. (2004), tatlısu çipurasında (*Oreochromis niloticus*) ve sazanlarla (*Cyprinus carpio*) yaptıkları çalışmalarında her iki balık türüne 96 saat boyunca 2,4-D ve azinphosmethyl uygulayarak farklı dokulardaki enzim aktivitelerini araştırmışlar. Deneme süresi sonunda her iki balık türünde enzim aktivitelerinde artış gözlediklerini, özellikle sazanların solungaçlarında SOD aktivitesinin, böbrek dokularında ise katalaz ve GSH-Px enzimlerinin artış gösterdiklerini bildirmişlerdir. Tatlısu çipurasında ise beyin dokularında katalaz aktivitesinin değişmediğini fakat GSH-Px’de artış olduğunu kaydetmişlerdir. Yine GST enzim aktivitesinin her iki türde bütün dokularda arttığını, MDA (molondialdehit) seviyelerinde herhangi bir değişim olmadığını ifade etmişlerdir. Aynı kimyasallarla yaptıkları bir başka çalışmada ise belirli dozlarda karıştırdıkları (27 ppm 2,4-D+ 0,003 ppm azinphos metil) kimyasalları 24, 48, 72 ve 96 saatlik peryotlarla uygulayarak *O. niloticus* hepatik antioksidan enzim aktiviteleri ve lipit peroksidasyon seviyelerini araştırmışlardır. Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) ve glutatyon reduktaz (GR) aktivitelerinde kontrol grubuna nazaran yüksek bir artışın olduğunu, MDA seviyesinin değişmediği bildirilmiştir (Oruç ve Üner, 2000). Sayeed vd. (2003), yeşil yılanbaş (*Channa punctatus*) balıkları ile yaptıkları çalışmalarında 48 saat boyunca deltametrinin tek dozajını (0,75 µg/L) uygulayarak karaciğer ve böbrek dokularındaki antioksidan enzim aktivitelerini araştırmışlardır. Deltametrinin tüm çalışma dokularında katalaz aktivitesini artırdığını, lipid peroksidasyonunu indüklediğini bildirmişlerdir. Nil tilapiyası (*Oreochromis niloticus*) yapılan bir çalışmada, balıklar farklı konsantrasyon (0,3 ve 0,6 mg/L) ve sürelerde (7, 14 ve 21 gün) oxyfluorfena maruz bırakılarak CAT, SOD, GR VE GST aktivitelerine bakılmış tüm çalışma gruplarında artış olduğu bildirilmiştir (Peixoto vd., 2006). Sazan yavruları (*C. carpio*) ile yapılan bir çalışmada Sepici vd. (2009), cyfluthrinin subletal dozajına (10 µg/L) 48 saat boyunca balıkları maruz bırakmışlar ve *C. carpio*’nun

beyin dokusunda MDA düzeyinin arttığını kaydetmişlerdir. Propiconazole (PCZ) ile yapılan bir çalışmada, gökkuşağı alabalıkları (*O. mykiss*) farklı sürelerde (7, 20 ve 30 gün) ve sublethal konsantrasyonlarda (0,2, 50 ve 500 µg/l) adı geçen fungusite maruz bırakılmış, oksidatif stres göstergeleri (LPO ve ROS) ve antioksidan (SOD, CAT, GR ve GSH-Px) enzim aktivitelerine bakılmış, yedi günlük çalışmada antioksidan savunma sistemi bu etkiye adaptasyonla cevap vermiş, 20 ve 30 günlük sürelerde oksidatif stresin göstergelerinin yüksek seviyeleri ile antioksidan enzimlerde inhibisyon görülmüştür. Uzun süreli muamelelerin ise ciddi oksidatif hasara yol açtığı bildirilmiştir (Li vd., 2010). Figueiredo-Fernandes vd. (2006), Nil tilapiyası (*O. niloticus*) ile yaptıkları çalışmalarında, farklı sıcaklıklarda (17 ve 27°C) tek doz (0,5 mg L⁻¹) uyguladıkları paraquatın (PQ) antioksidan enzimler üzerindeki etkisine bakmışlar ve adı geçen herbisit SOD, GST ve GR aktivitelerinde artışa sebep olduğunu kaydetmişlerdir. Avrupa yılan balığı (*Anguilla anguilla*) ile yapılan bir çalışmada, balıklar 96 saat boyunca DDVP (2,2-dichlorovinyl dimethyl phosphate)'nin sublethal dozuna maruz bırakmışlar ve deneme süresi sonunda GR aktivitesinde artış olduğunu bildirmişlerdir (Pena-Llopis vd., 2003). Kızılğöz (*Rutilus rutilus*) ile yapılan bir çalışmada, farklı sürelerde uygulanan diazonin CAT aktivitesi üzerine etkisine bakılmış, 24. saatte CAT aktivitesinin artışı adaptasyon olarak belirtilmiş, 48 ve 96. saatlerde ise CAT aktivitesinde azalma olduğu bildirilmiştir (Keramati vd., 2010). Aynı kimyasalla aynalı sazanlarda (*C. carpio*) Oruç ve Usta (2007) çalışmışlar ve farklı sürelerde (15 ve 30 gün) kullandıkları insektisit çeşitli dokulardaki antioksidan enzim aktiviteleri üzerinde etkili olduğunu, SOD, CAT ve GSH-Px aktiviteleri ve MDA seviyesinde artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Diazoninin uygulandığı başka bir çalışmada ise, *O. niloticus* farklı peryotlarda (1, 7, 15 ve 30 gün) adı geçen kimyasala maruz bırakılmış, deneme süresi sonunda SOD, CAT ve GPx aktiviteleri ile MDA seviyesinde artış olduğu bildirilmiştir. (Durmaz vd., 2005). Parves ve Raisuddin (2006), deltametrine maruz bıraktıkları *C. punctatu*'nun enzimatik olmayan antioksidan yapılarının etkilendiğini ve glutatyon miktarında azalmalar olduğunu kaydetmişlerdir. Dorval ve Hontela (2003), yaptıkları çalışmalarında, bir organoklorlu pestisit olan endosulfanın farklı seviyelerdeki uygulama dozlarının *O. mykiss* enzim aktivitelerine bakmışlar, bu pestisit SOD, GST ve GSH-Px aktiviteleri ile MDA seviyesini yükselttiğini bildirmişlerdir.

Endosulfan+chlorpyrifos insektisitlerine maruz kalan *Labeo rohita* balıklarında solungaç ve karaciğer SOD aktivitesinde control grubuna göre bir artışa neden olduğu rapor edilmiştir (Naz vd., 2019). Chlorpyrifos tarafından indüklenen oksidatif stres altında artan SOD aktivitesi, süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit dönüşmesinden ve CAT tarafından da oksijene ve suya dönüştürülmesinden kaynaklanıyor olabilir (Sanchez vd., 2005). SOD aynı zamanda, oksidatif stresle baş etmede önemli bir rol oynayan ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) öldürücü etkilerine karşı temel bir savunmayı içeren ilk önemli bir antioksidan enzimdir (Kohen ve Nyska, 2002). Oruç (2010) ayrıca klorpirifos'a maruz kalan balıklarda SOD aktivitesinde önemli artış olduğunu bildirmiştir. Kumar vd. (2011), *Oreochromis mossambicus*'un bronş ve hepatik dokusunda, endosülfan'a akut maruziyetten sonra SOD aktivitesi artmış olduğunu çalışmalarında bildirmişlerdir.

Deneyde, PER maruziyeti sonucu, doz ve süreye bağlı olarak solungaç ve karaciğer dokularındaki MDA artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Doku hasarının bir göstergesi olan MDA seviyelerindeki artışın PER indüklemesi sonucu balıkta artmış reaktif oksijen türevlerinden (ROS) kaynaklanmaktadır. Ayrıca ROS oksidatif stresin hücre apoptozunun tetikleyicileri olduğu gösterilmiştir (Shen ve Liu, 2006).

Bizim çalışmamızda da literatürlerde belirtilen sonuçlara benzer şekilde kontrol grubuna göre PER ile indüklenmiş sazan balıklarının karaciğer ve solungaç dokularında, 4 ve 21 gün sürelerde SOD aktiviteleri Per10 ve Per20 doz gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış göstermiştir ($p<0.05$).

Endosulfan+chlorpyrifos insektisitlerine maruz kalan *Labeo rohita* balıklarında solungaç ve karaciğer CAT aktivitesinde kontrol grubuna göre bir artışa neden olduğu rapor edilmiştir (Naz vd., 2019). Artan CAT seviyesi, insektisitlere maruz kalma ile üretilen hücreden ROS'un çıkarılmasına bağlı olabilir (Stara vd., 2012). Sazan karaciğerindeki CAT aktivitesi, endosulfan varlığında önemli ölçüde artmıştır (Salvo vd., 2012). Çalışmamızda solungaç ve karaciğer dokularında permethrinin her iki doz grubunda da (10 ve 20 ppm) CAT düzeylerinde anlamlı bir artışlar literatür bilgisiyle uyumludur. Antioksidan çalışmalarda süperoksit anyonunun H_2O_2 'ye dönüşmesini katalize eden SOD ve H_2O_2 'nin su ve oksijene dönüşümünü katalize

eden CAT, toksikolojik etkilere karşı ilk savunma hattıdır ve bu enzimler biyobelirteçler olarak kullanılır (Pandey vd., 2003).

Naz vd. (2019) Endosulfan+chlorpyrifos insektisitlerine maruz kalan *Labeo rohita* balıklarında solungaç ve karaciğer lipid peroksidasyon aktivitesinde control grubuna göre bir artışa neden olduğu rapor edilmiştir. Karaciğerdeki daha yüksek lipid peroksidasyon aktivitesi, toksik maddelerinde toksifikasyonundaki rolüne bağlı olabilir. Toksik maddelerin biyotransformasyonu sırasında ROS üretimi, oksidasyon yoluyla hücreye zarar verebilir (Van der Oost vd., 2003). Artan lipid peroksidasyon aktivitesinin, hidrojenperoksiti dönüştürerek ROS'u süpürmesi beklenebilir (Hinton vd., 2008). 4-D+azinfosmetil karışımına maruz kalan tilapinin karaciğerinde peroksidaz aktivitesindeki değişiklikler Oruç ve Üner (2000) tarafından bildirilmiştir. Akut endosülfan konsantrasyonuna maruz kalan *L.rohita*'nın solungaç, beyin, karaciğer ve kasında peroksidaz aktivitesinde süreye özgü bir artış gözlemlenmiştir (Ullah vd., 2016).

Fırat ve Aytekin (2018), thiamethoxamın toksik etkilerini, Nil tilapyası *Oreochromis niloticus*'ta oksidatif stres parametreleri ile araştırmışlar, balıkları 4 ve 14 günlük sürelerle 60 ve 120 mg/L thiamethoxam etkisinde solungaç ve bağırsak dokularındaki CAT ve SOD aktiviteleri ile GSH ve MDA seviyeleri belirlemişlerdir. Thiamethoxamın etkisinde özellikle de yüksek ortam derişiminde CAT aktivitesinde solungaç ve bağırsak dokularında 4 günlük süre sonunda anlamlı bir artış; 14 günlük süre sonunda ise solungaç dokusunda anlamlı bir azalış belirtmişlerdir ($P<0.05$). SOD aktivitesi solungaçta her iki etki süresi sonunda insektisidin düşük ve yüksek ortam derişimlerinde; bağırsakta ise 14 günlük süre sonunda ve yüksek ortam derişiminde artış gösterdiğini çalışmalarında bildirmişlerdir ($P<0.05$). GSH düzeyi özellikle de 120 mg/L thiametoxam etkisinde her iki dokuda da 4 günlük süre sonunda anlamlı bir artış; 14 günlük süre sonunda ise önemli bir azalış gösterdiğini vurgulamışlardır ($P<0.05$). Solungaç ve bağırsak dokularındaki MDA düzeyi ise, 14 günlük süre sonunda yüksek ortam derişiminde önemli düzeyde arttığını vurgulamışlardır ($P<0.05$). Çalışmalarında thiametoxamın özellikle de yüksek ortam derişiminde *O. niloticus*'ta oksidatif strese neden olduğunu göstermişlerdir.

Özok (2020) çalışmalarının sonuçlarına göre, SOD (48, 72 ve 96. saatlerde) ve CAT ve belirtmişlerdir ($P<0.05$). (24,48,72 ve 96. saatlerde) enzim aktivitelerindeki

azalma cypermethrin'e maruziyet ile anlamlıydı ($p < 0.05$). Ayrıca LPO'nun göstergesi olan MDA düzeylerindeki artış anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Bununla birlikte, cypermethrin'e maruz kalan 24 saatlik periyotta, kontrol grubuna göre böbrek ve beyinde SOD aktivitesinde anlamlı artış saptamışlardır ($p < 0.05$). Yukarıdaki çalışmalarda belirtilen sonuçlara benzer şekilde bizim çalışmamızda da PER ile indüklenmiş sazan balıklarının karaciğer ve solungaç dokularında, 4 ve 21 gün sürelerde GSH-Px aktiviteleri kontrol grubuna göre Per10 ve Per20 doz gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış göstermiştir ($p < 0.05$).

Parlak vd. (2018) Alfa-sipermetrinin, gökkuşağı alabalıkları üzerindeki toksik etkilerini inceledikleri çalışmalarında pestisit 3 farklı konsantrasyonuna maruz bırakmışlar ve 96 saatlik akut uygulama süresinde balıklardan 0, 24, 48 ve 96 saatlerde solungaç dokusunda antioksidan enzim aktivitesi ölçümleri yapmışlardır. Elde ettikleri sonuçlarında SOD, CAT, GPx ve MDA seviyelerinde çok önemli ölçüde artış belirlenmiştir ($P > 0,1$). Sonuçlar doğrultusunda, canlıda savunma mekanizması olan antioksidanların, pestisit toksik etkisine karşı direnç gösterdiğini ifade etmişlerdir.

Yukarıdaki birçok örnek çalışmalarda anlaşılabileceği üzere bizim çalışmamızdaki PER maruziyeti karaciğer ve solungaç dokudaki MDA, SOD, CAT ve GSH-Px seviyelerinde artışa neden olmuştur ki bu sonuç pestisitlerle yapılan diğer çalışmalarda antioksidan enzim aktivitelerindeki artışla sonuçlanan bulgularla desteklenmektedir.

Yapılan literatür taramaları sonucunda; pestisitlerin sucul organizmaların antioksidan savunma sisteminde birtakım değişikliklere ve bunun sonucunda hücresel düzeyde hasarlara sebep olduğu görülmektedir. Sonuç olarak çalışmamızın tüm antioksidan verilerini değerlendirdiğimizde; PER'in süreye ve doza bağlı olarak *Cyprinus carpio* balığında toksik etki göstermiştir.

6. ÖNERİLER

Bugün dünyadaki çevresel kirliliğin en önemli kaynaklarından biri olan pestisitler sucul ekosistemlerdeki canlılar içinde ciddi bir tehlikedir. Suyu karışan pestisitler balıklar tarafından solungaçlar ve deri yoluyla ya da doğrudan gıda yoluyla bünyeye alınmakta ve vücutta kolaylıkla biriktirmektedirler. Bunun sonucu olarak balıklarda doğrudan ölümle sonuçlanan etkiler ortaya çıkabildiği gibi zamanla ortaya çıkan ve büyüme, üreme ve davranışlar gibi balık fizyolojisini etkileyen çeşitli zararlı etkiler de görülebilmektedir. Diğer yandan balıklar içerdikleri protein ve yağ bakımından önemli gıda kaynaklarıdır ve besin olarak tüketilmeleri sonucunda besin zincirinin daha üst basamaklarında bulunan hayvanlara ve en üstünde bulunan insanlara kadar bu kirleticileri taşıyabilmektedirler.

Tez çalışmaları ve analizleri yapılarak hematolojik, immünolojik ve biyokimyasal kan parametre sonuçları değerlendirilerek, kirleticilerin balık yapısında oluşturduğu etkileri mümkün olduğunca bilmek ve önemsemek gerekir. Bu durum ekosistemin geleceği ve sürdürülebilirliği yönünden önem taşımaktadır.

Pestisitlerin neden olduğu doku hasarlarını belirlemek amacıyla histopatolojik çalışmaların yanında moleküler çalışmalarında yapılması faydalı olabilir. Sucul canlılar üzerine kirleticilerin etkilerinin araştırılması ve çevresel izleme çalışmaları için incelenen kan parametreleri yanında biyomarkırlarında belirlenmesi önerilir.

Deneyssel ortamda balık fizyolojisi üzerine pestisitlerin etkisi araştırılırken çalışılan kan parametreleri ve pestisit birikimlerinin doğal ortamında da yaygın bir şekilde incelenerek doğal ortam ile deneyssel şartlar arasında bağlantı kurulması önerilir.

Bu doğrultuda Türkiye'deki ve Dünya'daki tarımsal faaliyetlerde yaygın bir şekilde kullanılan permethrin pestisitinin yüksek besin değerine sahip olan sucul canlılar üzerindeki etkilerinin daha çok araştırılması ve etkilerinin ortaya konması gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abernathy, C.O. ve Casida, J.E., 1973. Pyrethrod insecticides: Esterase cleavage in relation to toxicity, *Science*, 179, 1235-1236.
- Adhikari, S., Sarkar, B., Chatterjee, A., Mahapatra, C.T. ve Ayyappan, S., 2004. Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost, *Labeo rohita* Hamilton, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 58, 2, 220-226.
- Akkuş, İ., 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, *Mimoza Yayınları* No 38, Sağlık dizisi 5, Konya.
- Atamanalp, M. ve Yanık, T., 2001. The toxic effects of pesticides on cyprinidae, *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18, 3.
- Anadón, A., Ares, I., Martínez, M.A. ve Martínez-Larrañaga, M.R., 2013. Pyrethrins and synthetic pyrethroids: use in veterinary medicine, In: Ramawat, K.G., Merillon, J.M., Eds., *Hand book of Natural Products*. Springer Verlag, Berlin Heidelberg, Germany, pp.1–25.
- Bao, Y., Williamson, G., 1996. The peroxidase activity of glutathione stransferase A1-1 on hydroperoxy-phospholipids, *Biochemical Society Transactions*, 24,3.
- Barzilai, A. ve Yamamoto, K.I., 2004. DNA damage responses to oxidative stress, *DNA Repair*, 3, 1109-1115.
- Başpınar, H., Durmuşoğlu E. ve Yıldırım E., 2010. Türkiye’de tarım ilaçları üretim ve kullanımı, VII. Technical Congress of Agriculture Engineering Abstract Book-2, 1047-1054.
- Beuge, J.A. ve Aust S.D., 1978. Microsomal lipids peroxidation, *Methods Enzymol*, 52, 302–310.
- Blahova J, Plhalova L, Hostovsky M, Divisova L, Dobsiková R, Mikulíková I, et al (2013). Oxidative stress responses in zebrafish *Danio rerio* after subchronic exposure to atrazine, *Food and Chemical Toxicology*, 61, 82-85.
- Blaxhall, P.C., 1972. The haematological assessment of the health of freshwater fish, *Journal of fish biology*, 4, 4, 593-604.
- Bradberry, S.M., Cage, S.A., Proudfoot, A.T. ve Vale, J.A., 2005. Poisoning due to pyre- throids, *Toxicological Reviews*, 24, 93–106.
- Carlioni, M., Nasuti, C., Fedeli, D., Montani, M., Amici, A., Vadhana, M.S. ve Gabbianelli, R., 2012. The impac to fearly life permethrin expo sure on development of neurodegeneration in adult hoo, *Experimental Gerontology Review Articles*, 47, 60–66.

- Chelikani, P., Fita, I. ve Loewen, P.C., 2004. Diversity of structures and properties among catalases, Cellular and Molecular Life Sciences, 61, 192-208.
- Christen, V., Crettaz, P. ve Fent, K., 2014. Additive and synergistic antiandrogenic activities of mixtures of azol fungicides and vinclozolin. Toxicology and applied pharmacology, 279, 3, 455-466.
- Çeribaşı, A.O., Sakin, F., Türk, G., Sönmez, M. ve Ateşşahin, A., 2012. Impact of ellagic acid on adriamycin-induced testicular histopathological lesions, apoptosis, lipid peroxidation and sperm damages. Experimental and Toxicologic Pathology, 64,7-8, 717-724.
- Deaton, C.M. ve Marlin, D.J., 2003. Exercise-associated oxidative stress, Clinical Techniques in Equine Practice, 2, 3, 278-291.
- Demoute, J.P., 1989. A brief review of the environmental fate and metabolism of pyrethroids, Pesticide Science, 27, 375–385.
- Ding, L., Liu, Z., Zhu, Z., Luo, G., Zhao, D. ve NI, J., 1998. Biochemical characterization of selenium-containing catalytic antibody as a cytosolic glutathione peroxidase mimic, Biochemical Journal, 332,1, 251-255.
- Diran, H.T., Swee, J.T., Arutyun S. ve Hunga, S.S.O., 2006. Bioaccumulation and chronic toxicity of dietary L-Selenomethionine in juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*), Aquatic Toxicology, 79, 401-409.
- Dorval, J. ve Hontela, A., 2003. Role of glutathione redox cycle and catalase in defense against oxidative stress induced by endosulfan in adrenocortical cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Toxicology and applied pharmacology, 192, 2, 191-200.
- Droge, W., 2002. Free radicals in the physiological control of cell function, Physiological reviews, 82, 1, 47-95.
- Durmaz, H., Sevgiler, Y. ve Uner, N., 2005. Tissue-specific antioxidative and neurotoxic responses to diazinon in *Oreochromis niloticus*, Pesticide Biochemistry and Physiology, 84, 215-226.
- Dündar, Y., Anlaşılması, A.R.H.M.S. ve Radikaller, F.Ö.A., 1999. Antioksidanlar, İnsizyon Cerrahi Tıp Bilim Dergisi, 2, 2, 134-142.
- Erkmen, B., 2015. Spermio toxicity and embryo toxicity of permethrin in the sea urchin *Paracentrotus lividus*, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 94, 4, 419-424.
- Falcioni, M.L., Nasuti, C., Bergamini, C., Fato, R., Lenaz, G. Ve Gabbianelli, R., 2010. The primary role of glutathione against nuclear DNA damage of striatum induced by permethrin in rats, Neuroscience 168, 2–10.

- Fan, C., Zhang, S., Liu, Z., Li, L., Luan, J. ve Saren, G., 2007. Identification and expression of a novel class of glutathione-S-transferase from amphioxus *Branchiostoma belcheri* with implications to the origin of vertebrate liver, *International Journal of Biochemistry*, 39, 450–461.
- Ferrari, A., Venturino, A. ve de D'Angelo, A.M.P., 2007. Effects of carbaryl and azinphos methyl on juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) detoxifying enzymes, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88, 2, 134-142.
- Fırat, Ö., ve Aytekin, T. (2018). Neonikotinoid insektisit thiamethoxamın *Oreochromis niloticus*' ta oksidatif stres parametreleri üzerine etkisi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 20, 2, 224-234.
- Figueiredo-Fernandes, A., Fontaínhas-Fernandes, A., Peixoto, F., Rocha, E. ve Reis-Henriques, M.A. 2006. Effects of gender and temperature on oxidative stress enzymes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to paraquat, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 85, 97–103.
- Gabbianelli, R., Falcioni, M.L., Nasuti, C., Cantalamessa, F., Imada, I. ve Inoue, M., 2009a. Effect of permethrin insecticide on rat polymorpho nuclear neutrophils, *Chemico-Biological Interactions*, 182, 245–252.
- Gabbianelli, R., Falcioni, M.L., Cantalamessa, F. ve Nasuti, C., 2009b. Permethrin induces lymphocyte DNA lesions at both Endo III and Fpg site sandchan gesin monocyte respiratory burst in rats, *Journal of Applied Toxicology*, 29, 317–322.
- Gabbianelli, R., Falcioni, M.L., Nasuti, C., Cantalamessa, F., Imada, I. ve Inoue, M., 2009b. Effect of permethrin insecticide on rat polymorpho nuclear neutrophils, *Chemico-Biological Interactions*, 182, 245–252.
- Gabbianelli, R., Palan, M., Flis, D.J., Fedeli, W., 2013. Imbalance in redox system of rat liver following permethrin treatment in a adolescence and neonatal age, *Xenobiotica* 43, 1103–1110.
- Gohel, P.D. ve Dodia, P.P., 2015. Toxicity evaluation and behavioural studies of fresh water fish *Labeo rohita* exposed to cypermethrin (Synthetic Pyrethroid), *International Journal of Pharmacy and Life Sciences*, 6, 2.
- Güvenç, D., Gülbahar, M.Y., Yavuz, O. ve Güvenc, T., 2020. Dose-and time-dependent effects of permethrin on hep2 cells: cell survival, lipid peroxidation and antioxidant defence system, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 26, 2, 263-268.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J.M., 2015. Free radicals in biology and medicine, New York: Oxford University Press Incredible; p. 55-79.

- Haan, J. B., Bladier, C., Griffiths, P., Kelner, M., O'Shea, R.D., Cheung, N.S. ve Beart, P.M., 1998. Mice with a homozygous null mutation for the most abundant glutathione peroxidase, Gpx1, show increased susceptibility to the oxidative stress-inducing agents paraquat and hydrogen peroxide, *Journal of Biological Chemistry*, 273, 35, 22528-22536.
- Hinton, D.E., Segner, H., Au, D.W.T., Kullman, S.W. ve Hardman, R.C., 2008. Liver toxicity, *The toxicology of fishes*, 328-352.
- Holmblad, T. ve Söderhäll, K., 1999. Cell adhesion molecules and antioxidative enzymes in a crustacean, possible role in immunity, *Aquaculture*, 172, 1-2, 111-123.
- Hu, F., Li, L., Wang, C., Zhang, Q., Zhang, X. ve Zhao, M., 2010. Enantioselective induction of oxidative stress by permethrin in rat adrenal pheochromocytoma (PC12) cells, *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 29, 3, 683-690.
- Imamura, L., Hasegawa, H., Kurashina, K., Hamanishi, A., Tabuchi, A. ve Tsuda, M., 2000. Repression of activity-dependent c-fos and brain-derived neurotrophic factor mRNA expression by pyrethroid insecticides accompanying a decrease in Ca²⁺ influx into neurons, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 295, 3, 1175-1182.
- Imanishi, S., Okura, M., Zaha, H., Yamamoto, T., Akanuma, H., Nagano, R., Shiraishi, H., Fujimaki, H. ve Sone, H., 2013. Prenatal exposure to permethrin in fluences vascular development of fetal brain and adult beha viorinmice off spring, *Environmental Toxicology*, 28, 617-629.
- Issam,C., Zohra, H., Monia, Z., Hassen, B.C., 2011. Effects of dermal sub-chronic exposure of pubes centmalerats to permethrin (PRMT) on the histological structures of genitaltract, testosterone and lipoperoxidation, *Environmental Toxicology*, 63, 393-400.
- Izawa, S., Inoue, Y. ve Kimura, A., 1996. Importance of catalase in the adaptive response to hydrogen peroxide: analysis of acatalasaemic *Saccharomyces cerevisiae*, *Biochemical Journal*, 320, 1, 61-67.
- Izokun-Etiobhio, B.O., Oraedu, A.C. ve Ugochukwu, E.N., 1990. A comparative study of superoxide dismutase in various animal species. *Comparative biochemistry and physiology, B, Comparative biochemistry*, 95, 3, 521-523.
- Jin, Y., Chen, R., Liu, W. And Fu, Z., 2010. Effect of endocrine disrupting chemical sonthe transcription of genesrelated to thein nate immunesystem in the early de- velopmental stage of zebra fish (*Danio rerio*), *Fish and Shellfish Immunology*, 28, 854-861.
- Kavitha, P. ve Rao, J.V., 2008. Toxic effects of chlorpyrifos on antioxidant enzymes and target enzyme acetylcholinesterase interaction in mosquito fish, *Gambusia affinis*, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 26, 2, 192-198.

- Kavitha, C., Malarvizhi, A., Kumaran, S.S. ve Ramesh, M., 2010. Toxicological effects of arsenate exposure on hematological, biochemical and liver transaminases activity in an Indian major carp, *Catla catla*, Food and Chemical Toxicology, 48, 10, 2848-2854.
- Keramati, V., Jamili, S. ve Ramin, M., 2010. Effect of diazinon on catalase antioxidant enzyme activity in liver tissue of *Rutilus rutilus*, Journal of, Fisheries and Aquatic Science, 5, 5, 368-376.
- Khan, M.A.Q., Ahmed, S., Bogdon, C., Khodadoust, A., Oluwake, A. ve Mark, V., 2006. Effect of temperature on heavy metal toxicity to juvenile crayfish, *Orconetes immunis* (Hagen), Environmental Toxicology, 21, 513- 520.
- Klaassen, C.D., 2001. Casarett & doull's toxicology - the basic science of poisons, 7th Ed. McGraw-Hill, New York, USA, 17, 133–225, 883-930.
- Kohen, R. ve Nysk, A., 2002. Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification, Experimental and Toxicologic Pathology, 30, 620-650.
- Kruger, N. J., 2009. The Bradford method for protein quantitation, In The protein protocols handbook, Humana Press, Totowa, NJ.
- Kumar, N., Prabhu, P.A.J., Pal, A.K., Remya, S., Aklakur, M., Rana, R.S., ve Jadhao, S.B., 2011. Anti-oxidative and immuno-hematological status of *Tilapia* (*Oreochromis mossambicus*) during acute toxicity test of endosulfan, Pesticide biochemistry and physiology, 99, 1, 45-52.
- Kumar, N., Gupta, S., Chandan, N.K., Aklakur, M., Pal, A.K. ve Jadhao, S.B., 2014. Lipotropes protect against pathogen-aggravated stress and mortality in low dose pesticide-exposed fish, PLoS One, 9, 4, e93499.
- Lawrance, R.A. ve Burk, R.F., 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver, Biochemical and biophysical research communications, 71, 4, 952-958.
- Lloyd, R., 1992. Pollution and freshwater fish, Fishing News Books, Oxford, UK.
- Li, W., Zha, J., Spear, P. A., Li, Z., Yang, L. ve Wang, Z., 2009. Changes of thyroid hormone levels and related gene expression in Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*) during 3-amino-1, 2, 4-triazole exposure and recovery, Aquatic toxicology, 92, 1, 50-57.
- Li, Z., Zlabeka, V., Grabica, R., Lia, P., Machovaa, J., Veliseka, J. ve Randak, T., 2010. Effects of exposure to sublethal propiconazole on the antioxidant defense system and Na⁺– K⁺-ATPase activity in brain of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, Aquatic Toxicology, 98, 297–303.
- Luck, H., 1963. Catalase spectrometric method, Methods in Enzymatic analysis.

- McCord, J.M. ve Fridovich, I., 1969. Superoxide dismutase: an enzymatic function for erythrocuprein (hemocuprein), *J Bio Chem* 244, 6049–6055.
- Mahmoud, N., Dellali, M., Aissa, P. ve Mahmoudi, E., 2012. Acute toxicities of cadmium and permethrin on the pre-spawning and post-spawning phases of *Hexaplex trunculus* from Bizerta Lagoon, Tunisia. *Environmental monitoring and assessment*, 184, 10, 5851-5861.
- Martínez-Álvarez, R.M., Morales, A.E. ve Sanz, A., 2005. Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors. *Reviews in Fish Biology and fisheries*, 15, 1, 75-88.
- Megha, M. A. ve UVP, A.V., 2018. Nikam classification of pesticides: a review int, *J. Res. Ayurveda Pharm*, 9, 4, 144-150.
- Monteiro, D.A., De Almeida, J.A., Rantin, F.T. ve Kalinin, A.L., 2006. Oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish, *Brycon cephalus*, exposed to organophosphorus insecticide Folisuper 600 (methyl parathion), *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 143, 2, 141-149.
- Monteiro, M., Quintaneiro, C., Nogueira, A.J.A., Morgado, F., Soares, A.M.V.M. ve Guilhermino, L., 2007. Impact of chemical exposure on the fish *Pomatoschistus icrops* Krøyer (1838) in estuaries of the Portuguese Northwest coast, *Chemosphere*, 66, 3, 514–522.
- Nasuti, C., Cantalamessa, F., Falcioni, G., Gabbianelli, R., 2003. Different effects of Type I and Type II pyrethroid sonery throcyte plasma membrane properties and enzymatic activity in rats, *Toxicology*, 191, 233–244.
- Nasuti, C., Gabbianelli, R., Falcioni, M.L., Di Stefano, A., Sozio, P. ve Cantalamessa, F., 2007. Dopaminergic system modulation, behavioral changes, and oxidative stress after neonatal administration of pyrethroids, *Toxicology*, 229, 3, 194-205.
- Nasuti, C., Falcioni, M.L., Nwankwo, I.E., Cantalamessa, F. Ve Gabbianelli, R., 2008. Effect of permethrin plus antioxidants on locomotor activity and striatum in adolescent rats, *Toxicology*, 251, 45–50.
- Nasuti, C., Carloni, M., Fedeli, D., DiStefano, A., Marinelli, L., Cerasa, L.S., Meda, C., Maggi, A. ve Gabbianelli, R., 2014. Effect of 17 beta-estradiol on striatal dopaminergic transmission induced by permethrin in early childhood rats, *Chemosphere*, 112, 496–502.
- Navarro, C., Reymond, N., Fourie, J., Hellmann, K. ve Bonneau, S., 2015. Prevention of *Babesia canis* in dogs: efficacy of a fixed combination of permethrin and fipronil (Effitix(R)) using an experimental transmission blocking model with infected *Dermacentor reticulatus* ticks, *Parasit, Vectors* 8, 32.

- Naz, H., Abdullah, S., Abbas, K. ve Hassan, W., 2019. Toxic effect of insecticides mixtures on antioxidant enzymes in different organs of fish, *Labeo rohita*, Pakistan Journal of Zoology, 51, 4, 1355.
- Olgun, S. ve Misra, H.P., 2006. Pesticides induced oxidative stress in thymocytes, Mol. Cell Biochem, 290, 137–144.
- Oruç, E.Ö. ve Uner, N., 2000. Combined effects of 2,4-D and azinphosmethyl on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in liver of *Oreochromis niloticus*, Comparative Biochemistry and Physiology, 127, 291-296.
- Oruç, E.Ö., Sevgiler, Y. ve Uner, N. 2004. Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2,4-D and azinphosmethyl, Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 137, 43–51.
- Oruç, E.Ö. ve Usta, D., 2007. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*, Environmental toxicology and pharmacology, 23, 1, 48-55.
- Oruç, E.Ö., 2010. Oxidative stress, steroid hormone concentrations and acetylcholinesterase activity in *Oreochromis niloticus* exposed to Chlorpyrifos, Pesticide Biochemistry and Physiology, 96, 160-166.
- Özmen, I., Bayir, A., Cengiz, M., Sirkecioglu, A.N. ve Atamanalp, M., 2004. Effects of water reuse system on antioxidant enzymes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792), Veterinarni Medicina-UZPI, Czech Republic.
- Özok, N., 2020. Effects of cypermethrin on antioxidant enzymes and lipid peroxidation of Lake Van fish (*Alburnus tarichi*), Drug and Chemical Toxicology, 43, 1, 51-56.
- Paller, M.S. ve Patent, M.T., 1991. Hydrogen peroxide and ischemic renal injury: effect of catalase inhibition. Free Radical Biology & Medicine, 10, 29-34.
- Pandey, S., Parvez, S., Sayeed, I., Haque, R., Bin-Hafeez, B. ve Raisuddin, S., 2003. Biomarkers of oxidative stress: a comparative study of river Yamuna fish *Wallago attu* (Bl. & Schn.), Science of the total environment, 309, 1-3, 105-115.
- Parlak, V., Atamanalp, M., Alak, G. ve Uçar, A., 2018. Alfa Sipermetrinin Gökkuşığı Alabalığı Solungaç Dokusunda Antioksidan Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi, SETSCI Conference Indexing System, Volume 3, 322-323
- Parves, S. ve Rasiuddin, S., 2006. Copper modulates non enzymatic antioxidant in the freshwater fish *Channa punctata* (Bloch) exposed to deltamethrin. Chemosphere 68, 1324-1332.

- Peña-Llopis, S., Dolores, F.M. ve Peña, J.B., 2003. Increased recovery of brain acetylcholinesterase activity in dichlorvos- intoxicated European eels *Anguilla anguilla* by bath treatment with N-acetylcysteine. *Diseases of Aquatic Organisms*, 55, 237–245.
- Peixoto, F., Alves-Fernandes, D., Santos, D. ve Fontáinhas-Fernandes, A., 2006. Toxicological effects of oxyfluorfen on oxidative stress enzymes in tilapia *Oreochromis niloticus*, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 85, 2, 91-96.
- Pham-Huy, L.A., He, H. ve Pham-Huy, C., 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health, *International journal of biomedical science: IJBS*, 4, 2, 89.
- Prashanth, M.S., Sayeswara, H.A. ve Goudar, M.A., 2011. Free cyanide induced physiological changes in the freshwater fish, *Poecilia reticulata*, *Journal of Experimental Sciences*, 2, 2.
- Price, R.J., Walters, D.G., Finch, J.M., Gabriel, K.L., Capen, C.C., Osimitz, T.G. ve Lake, B.G., 2007. A mode of action for induction of liver tumors by pyrethrins in the rat. *Toxicology and applied pharmacology*, 218, 2, 186-195.
- Ray, D.E. ve Fry, J.R., 2006. A reassessment of the neurotoxicity of pyrethroid insecticides, *Pharmacology Therapeutics*, 111, 174–193.
- Rosita, G., Manuel, C., Franco, M., Cinzia, N., Donatella, F., Emiliano, L. ve Roberta, G., 2015. Permethrin and its metabolites affect Cu/Zn superoxide conformation: fluorescence and in silico evidences, *Molecular BioSystems*, 11, 1, 208-217.
- Rocha-e-Silva, T. A., Rossa, M.M., Rantin, F.T., Matsumura-Tundisi, T., Tundisi, J.G. ve Degterev, I.A., 2004. Comparison of liver mixed-function oxygenase and antioxidant enzymes in vertebrates, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 137, 2, 155-165.
- Rudneva, I.I., 1997. Blood antioxidant system of Black Sea elasmobranch and teleosts. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 118, 2, 255-260.
- Sagstad, A., Sanden, M., Haugland., Hansen, A.C., Olsvik, P.A. ve Hemre, G.I., 2007. Evaluation of stress and immune response biomarkers in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., fed different levels of genetically modified maize (Bt maize), compared with its near isogenic parental line and a commercial suprex maize, *Journal of fish diseases*, 30, 4, 201-212.
- Sahoo, D. K., 2011. Testicular protection from thyroid hormone mediated oxidative stress, *Web Medicinal Central Peer Review*, 2- 12.
- Salvo, L.M., Bairy, A.C.D., Ventura, E.C., Marques, M.R.F., Silva, J.R.M.C., Klemz, C. ve De-Assis, H.C.S., 2012. Assessment of the sublethal toxicity of organochlorine pesticide endosulfan in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*), *Journal of Environmental Science and Health*, 47, 1652-1658.

- Sanchez, W., Palluel, O., Meunier, L., Coquery, M., Porcher, J.M. ve Ait-Aissa, S., 2005. Copperinduced oxidative stress in three-spined stickleback: Relationship with hepatic metal levels, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19, 177–183.
- Sargowo, D., Ovianti, N., Susilowati, E., Ubaidillah, N., Widya, Nugraha A., Vitriyaturrida, Siwi. ve Proboretno, K., 2018. The role of polysaccharide peptide of *Ganoderma lucidum* as a potent antioxidant against atherosclerosis in high risk and stable angina patients, *Indian Heart J* September – October, 70, 5, 608- 614.
- Satyavardhan, K., 2013. A comparative toxicity evaluation and behavioral observations of fresh water fishes to fenvalerate, *Middle East Journal of Scientific Research*, 13, 2, 133-136.
- Sayeed, I., Parvez, S., Pandey, S., Bin-Hafeez, Haque, B. R., ve Raisuddin, S., 2003. Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 56, 295–301.
- Sellami, B., Louati, H., Dellali, M., Aissa, P., Mahmoudi, E., Coelho, A.V., ve Sheehan, D., 2014a. Effects of permethrin exposure on antioxidant enzymes and protein status in Mediterranean clams *Ruditapes decussatus*, *Environmental science and pollution research*, 21, 6, 4461-4472.
- Sellami, B., Khazri, A., Louati, H., Boufahja, F., Dellali, M., Sheehan, D. ve Beyrem, H., 2014b. Effects of permethrin on biomarkers in Mediterranean clams (*Ruditapes decussatus*), *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 92, 5, 574-578.
- Sellami, B., Khazri, A., Mezni, A., Louati, H., Dellali, M., Aissa, P. ve Sheehan, D., 2015. Effect of permethrin, anthracene and mixture exposure on shell components, enzymatic activities and proteins status in the Mediterranean clam *Venerupis decussata*, *Aquatic toxicology*, 158, 22-32.
- Sepici-Dinçel, A., Benli, A.Ç.K., Selvi, M., Sarıkaya, R., Şahin, D., Özkul, I.A. ve Erkoç, F., 2009. Sublethal cyfluthrin toxicity to carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings: biochemical, hematological, histopathological alterations, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 5, 1433-1439.
- Shen, H.M. ve Liu, Z.G., 2006. JNK signaling pathway is a key modulator in cell death mediated by reactive oxygen and nitrogen species, *Free Radical Biology and Medicine*, 40, 6, 928-939.
- Singh R.N., Pandey, P.K., Singh, N.N. ve Dass, V.K., 2010. Acute toxicity and behavioral responses of common carp *Cyprinus carpio* (Linn.) to an Organophosphate (Dimethoate), *World Journal of Zoology*, 5, 3, 183-188.
- Slaninova, A., Smutna, M., Modra, H. ve Svobodova, Z., 2009. A review: Oxidative stress in fish induced by pesticides, *Neuro Endocrinology Letters*, 30, 2-12.

- Song, S.B., Xu, Y. ve Zhou, B.S., 2006. Effects of hexachlorobenzene on antioxidant status of liver and brain of common carp (*Cyprinus carpio*), Chemosphere, 65, 4, 699-706.
- Stara, A., Machova, J. ve Velisek, J., 2012. Effect of chronic exposure to simazine on oxidative stress and antioxidant response in common carp (*Cyprinus carpio* L.), Environmental Toxicology and Pharmacology, 133, 3, 334-343.
- Stephensen, E., Sturve, J. ve Förlin, L., 2002. Effects of redox cycling compounds on glutathione content and activity of glutathione-related enzymes in rainbow trout liver. Comp. Biochem. Physiol. C, Toxicology and Pharmacology, 133, 3, 435-442.
- Stout, D.M., Bradham, K.D., Egeghy, P.P., Jones, P.A., Croghan, C.W., Ashley, P.A., Pinzer, E., Friedman, W., Brinkman, M.C., Nishioka, M.G. ve Cox, D.C., 2009. American Healthy Homes Survey: a national study of residential pesticides measured from floor wipes, Environmental Science Technology, 43, 4294-4300.
- Sturve, J., Berglund, Å., Balk, L., Broeg, K., Böhmert, B., Massey, S. ve Förlin, L., 2005. Effects of dredging in Göteborg Harbor, Sweden, assessed by biomarkers in eelpout (*Zoarces viviparus*), Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal, 24, 8, 1951-1961.
- Şener, G., Toklu, H., Ercan, F. ve Erkanlı, G., 2005. Protective effect of β -glucan against oxidative organ injury in a rat model of sepsis, International immunopharmacology, 5, 9, 1387-1396
- Şener, G. ve Yeğen, Berrak Ç., 2009. İskemi reperfüzyon hasarı, Klinik Gelişim Dergisi, 22, 5-13.
- Terada, T., 2005. Role of glutathione S-transferase in lens under oxidative stress, Journal of Health Science, 51, 263-271.
- Tiryaki, O., Canhilal, R. ve Horuz, S., 2010. Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 26, 2, 154-169.
- Toros, S. ve Maden, S., 1991. Tarımsal Savaşım Yöntem ve İlaçları, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 1222, 332.
- Trenzado, C., Hidalgo, M. C., García-Gallego, M., Morales, A. E., Furné, M., Domezain, A. ve Sanz, A., 2006. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in sturgeon *Acipenser naccarii* and trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study, Aquaculture, 254, 1-4, 758-767.
- Türkez, H. ve Aydın, E., 2012. The effect of a urine on permethrin induced cytogenetic and oxidative damage in cultured human lymphocytes, Archives of Industrial Hygiene and Toxicology, 63, 27-34.

- Türkez, H. ve Toğar, B., 2011. Zeytin (*Olea europaea* L.) yaprağı ekstresi, insan lenfositlerinde permetrinin genotoksitesine ve oksidatif stresine karşı koyar, Toksikolojik Bilimler Dergisi, 36, 5, 531-537.
- Türkez, H., Aydın, E., Şişman, T. ve Aslan, A., 2012. *Peltigera rufescens* (Weis) Humb. (A liken) 'in imazalil kaynaklı genotoksitesite üzerindeki rolü: in vitro mikronükleus ve kromozom sapmalarının analizi, Toksikoloji ve Endüstriyel Sağlık, 28, 6, 492-498.
- Xu, L.C., Liu, L., Ren, X.M., Zhang, M.R., Cong, N., Xu, A.Q. ve Shao, J.H., 2008. Evaluation of androgen receptor transcriptional activities of some pesticides in vitro. Toxicology, 243, 1-2, 59-65.
- Ullah, S., Hasan, Z. ve Dhama, K., 2016. Toxic effects of endosulfan on behaviour, protein contents and antioxidant enzyme system in gills, brain, liver and muscle tissues of rohu, *Labeo rohita*. International Journal of pharmacology, 12, 1, 1-10.
- Vadhana, M.S.D., Nasuti, C. ve Gabbianelli, R., 2010. Purinebasesoxidationandrepair following permethrin insecticid etreatmentin ratheart cells, Cardiovascular Toxicology, 10, 199–207.
- Vadhana, D., Carloni, M., Fedeli, D., Nasuti, C. ve Gabbianelli, R., 2011a. Perturbation of ratheart plasma membrane fluidity dueto metabolites of permethrin insecticide, Cardiovascular Toxicology, 11, 226–234.
- Vadhana, M.S.D., Carloni, M., Nasuti, C., Fedeli, D. ve Gabbianelli, R., 2011b. Early life permethrin insecticid et reatment lead stoheart damageina dultrats, Experimental Gerontology, 46, 731–738.
- Vadhana, M.S.D., Arumugam, S.S., Carloni, M., Nasuti, C. ve Gabbianelli, R., 2013. Early life permethrin treatment leads to long-term cardio toxicity, Chemosphere, 93, 6, 1029-1034.
- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M., ve Scoullou, M., 2006. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants, Ecotoxicology and environmental safety, 64, 2, 178-189.
- Van der Oost, R., Beyer, J., ve Vermeulen, N.P., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review, Environmental toxicology and pharmacology, 13, 2, 57-149.
- Varlout, M., Fourie, J.J., Blagburn, B.L. ve Deflandre, A., 2015. Expellency, anti-feeding and speed of killofadinotefuran-permethrin-pyriproxyspot-on (Vectra® 3D) in dogs weekly challenged with adult fleas (*Ctenocephalides felis*) for 1 month-comparison to aspinosad tablet (Comfortis®), Parasitology Research, 114, 7, 2649–2657.

- Wang, X., Wu, Q., Wan, D., Liu, Q., Chen, D., Liu, Z., ve Yuan, Z., 2016. Fumonisin: oxidative stress-mediated toxicity and metabolism in vivo and in vitro, *Archives of toxicology*, 90, 1, 81-101.
- Willemin, M.E., Kadar, A., de Sousa, G., Leclerc, E., Rahmani, R. ve Brochot, C., 2015. In vitro human metabolism of permethrin isomers alone or as a mixture and the formation of the major metabolites in cryopreserved primary hepatocytes, *Toxicology in Vitro*, 29, 4, 803-812.
- Yan, H. ve Harding, J.J., 1997. Glycation-induced inactivation and loss of antigenicity of catalase and superoxide dismutase, *Biochemical Journal*, 328, 2, 599-605.
- Yavuz, O., Aksoy, A., Das, Y.K., Gulbahar, M.Y., Guvenc, D., Atmaca, E., Yarim, F.G., Cenesiz, M., 2015. Subacute oral toxicity of combinations of selected synthetic pyrethroids, piperonyl butoxide, and tetramethrin in rats, *Toxicology and Industrial Health*, 31, 289-297.
- Yavuzcan, H., Meriç, İ. ve Ergönül, M.B., 2009. Changes of non-specific immune parameters in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* after exposure to antimicrobial agents used in aquaculture, *Journal of Applied Aquaculture*, 21, 139-150.
- Yavuzcan, H. ve Ergönül, M.B., 2010. Is prophylactic formalin exposure a stress source for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*), *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 57, 113-118.
- Yıldız, H.Y., Köksal, G., Borazan, G.ve Benli, C.K., 2006. Nitrite induced methemoglobinemia in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, *Journal of Applied Ichthyology*, 22, 5, 427-426.
- Yıldız, H.Y. ve Ergonul, M.B., 2010. Is prophylactic formalin exposure a stress source for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*), *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 57, 113-118.
- Yonar, M.E. ve Sakin, F., 2011. Ameliorative effect of lycopene on antioxidant status in *Cyprinus carpio* during pyrethroid deltamethrin exposure, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99, 3, 226-231.
- Yücel, Ü., 2007. Pestisitlerin insan ve çevre üzerine etkileri. Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi, Nükleer Kimya Bölümü. Ankara, URL Adres: <http://www.dogainsanisbirligidernegi.org.tr/makaleler/pestisitler.doc> Erişim tarihi: 20.10.2020.
- Zhang, S.Y., Ueyama, J., Ito, Y., Yanagiba, Y., Okamura, A., Kamijima, M. ve Nakajima, T., 2008. Permethrin may induce adult male mouse reproductive toxicity due to cis isomer not trans isomer, *Toxicology*, 248, 2-3, 136-141.

Zhang, Z.Y., Yu, X.Y., Wang, D.L., Yan, H.J. ve Liu, X.J., 2010. Acute toxicity to zebra fish of two organophosphates and four pyrethroids and their binary mixtures, Pest Management Science, 66, 84-89.

URL-1<https://archive.epa.gov/pesticides/reregistration/web/pdf/permethrin_red.pdf>, alındığı tarih: 25.10.2020.

URL-2<<http://www.epa.gov/oppsrrd1/reevaluation/pyrethroids-pyrethrins.html>>, alındığı tarih: 25.10.2020.

URL-3<<http://www.fao.org/3/a4ef2d16-70a7-460a-a9ac-2a65a533269a/i4646e.pdf>>, alındığı tarih: 25.10.2020.

URL-4<<http://fishesofaustralia.net.au/home/species/3964>>, alındığı tarih: 20.11.2020.



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı Orhan UĞURER

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Önlisans Kırıkkale Üniversitesi M.Y.O Tıbbi Laboratuvar Bölümü, 2001-2003.
Lisans Anadolu Üniversitesi İktisat Fakültesi Kamu Yönetimi Bölümü, 2006-2012.
Lisans Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Biyoloji Bölümü, 2015-2017.
Yüksek Lisans Aksaray Üniversitesi F.B.E. Biyoloji A.B.D., 2018-

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

1. T.C Sağlık Bakanlığı /Kırıkkale Devlet Hastanesi, 2001-2004.
2. T.C Sağlık Bakanlığı/Aksaray Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Laboratuvarı 2004-

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Uluslararası Kongre ve Sempozyum Sunumları Makaleleri

1. Ugurer, O. ve Orun, İ., 2020. Effect of pesticide permethrin on antioxdan system of common carp *Cyprinus carpio*.2nd International Eurasian Conference On Science, Engineering and Technology (Eurasiansciencetech 2020), 7-9 October, Gaziantep, Turkey.