



**FARKLI SU SICAKLIKLARINDA
DELTAMETHRIN UYGULANAN PULLU SAZAN
(*Cyprinus carpio* LINNAEUS, 1758)'DA OKSİDATİF
STRESİN BELİRLENMESİ**

Su Ürünleri Müh. Ahmet Turan SAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı**

Danışman: Doç. Dr. M. Enis YONAR

OCAK-2017

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

**FARKLI SU SICAKLIKLARINDA DELTAMETHRİN UYGULANAN
PULLU SAZAN (*Cyprinus carpio* LİNNÆUS, 1758)'DA OKSİDATİF STRESİN
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Su Ürünleri Müh. Ahmet Turan SAN

(111128103)

Anabilim Dalı: Su Ürünleri Yetiştiriciliği

Danışman: Doç. Dr. M. Enis YONAR

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 26/12/2016

ARALIK-2016

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI SU SICAKLIKLARINDA DELTAMETHRİN UYGULANAN
PULLU SAZAN (*Cyprinus carpio* LINNAEUS, 1758)'DA OKSİDATİF STRESİN
BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Ahmet Turan SAN
(111128103)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 26 Aralık 2016

Tezin Savunulduğu Tarih : 23 Ocak 2017

Tez Danışmanı: Doç. Dr. M. Enis YONAR

Tez Jüri Üyeleri: Prof. Dr. İbrahim CENGİZLER

Prof. Dr. Sibel KÖPRÜCÜ

OCAK-2017

ÖNSÖZ

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

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

Ahmet Turan SAN
ELAZIĞ- 2016

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER	II
ÖZET	IV
SUMMARY	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VI
TABLolar LİSTESİ	VII
1. GİRİŞ	1
1.1. Literatür Bilgisi	3
1.1.1. Su Sıcaklığı.....	3
1.1.2. Pestisitler	3
1.1.2.1. Deltamethrin	5
1.1.3. Serbest Radikaller	6
1.1.3.1. Serbest Radikallerin Etkileri	7
1.1.3.2. Lipid Peroksidasyon	8
1.1.3.3. Malondialdehit (MDA)	10
1.1.4. Balıklarda Antioksidan Savunma Sistemi	11
1.1.5. Glutasyon	12
1.1.6. Glutasyon-S-Transferazlar.....	13
2. MATERYAL ve METOT	15
2.1. Materyal	15
2.1.1. Çalışma Alanı	15
2.1.2. Balık	15
2.1.3. Deltamethrin	15
2.1.4. Araştırmada Kullanılan Araç-Gereçler ve Kimyasal Maddeler	17
2.2. Metot	18
2.2.1. Deneysel Plan	18
2.2.2. Biyokimyasal Analizler	19
2.2.2.1. Doku Örneklerin Alınması ve Homojenatların Hazırlanması.....	19
2.2.2.2. MDA Düzeyinin Belirlenmesi	20
2.2.2.3. GSH Düzeyinin Belirlenmesi	20
2.2.2.4. GST Aktivitesinin Belirlenmesi	20

2.2.2.5.	Protein Düzeyinin Belirlenmesi	20
2.2.3.	İstatistiksel Analizler	21
3.	BULGULAR	22
3.1.	MDA Düzeylerindeki Değişimler	22
3.2.	GSH Düzeylerindeki Değişimler	24
3.3.	GST Aktivitelerindeki Değişimler	26
4.	SONUÇLAR ve TARTIŞMA	29
5.	ÖNERİLER	34
	KAYNAKLAR	35
	ÖZGEÇMİŞ	42



ÖZET

Bu çalışmada farklı sıcaklıklarda deltamethrin uygulanmış pullu sazanda oksidatif stresin araştırılması amaçlandı. Bu amaçla, balıklar su sıcaklığı ayarlanabilir termostatlı ısıtıcılarla 23 °C' ye ayarlanmış 6 farklı cam akvaryuma stoklandı. Onbeş günlük adaptasyon süresinden sonra, balıkların yerleştirildiği akvaryumlardan 2' sinin sıcaklığı 18 °C' ye düşürülürken, diğer ikisinin ise 28 °C' ye yükseltildi. Bu gruplara 0.036 µg/L konsantrasyonunda deltamethrin 14 gün süreyle verildi. Deneme sonunda balıklardan karaciğer ve solungaç örnekleri alındı. Bu örneklerde lipit peroksidasyonun bir göstergesi olarak malondialdehit (MDA) düzeyi, redükte glutatyon (GSH) düzeyi ile glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesi belirlendi.

Kontrol grubuyla kıyaslandığında, 18 °C ve 28 °C' deki grupların karaciğer ve solungacında MDA düzeyi arttı. Sıcaklıktaki değişimle eşzamanlı olarak deltamethrin uygulanan gruplarda MDA düzeyleri 18 °C ve 28 °C' deki gruplardan daha yüksekti. Bu artış sıcaklığın 23 °C' de kaldığı ve deltamethrin uygulanan grupta da gözlemlendi.

Kontrol grubuyla kıyaslandığında, 18 °C ve 28 °C' deki grupların karaciğer ve solungacındaki GSH düzeyleri ve GST aktiviteleri azaldı. Sıcaklıktaki değişimle eşzamanlı olarak deltamethrin uygulanan gruplarda GSH düzeyleri ve GST aktiviteleri 18 °C ve 28 °C' deki gruplardan daha düşüktü. Bu azalma sıcaklığın 23 °C' de kaldığı ve deltamethrin uygulanan grupta da gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Antioksidanlar, Balık, Glutatyon-S-transferaz, Malondialdehit, Oksidatif stres, Redükte glutatyon, Sıcaklık.

SUMMARY

Determination of Oxidative Stress in Scaly Carp (*Cyprinus Carpio* Linnaeus, 1758) Exposed to Deltamethrin in Different Water Temperature

In this study, it was aim to investigate oxidative stress in scaly carp (*Cyprinus carpio*) exposed to delthamethrin in different temperatures. For this purpose, fish were stocked to six different glass aquarium which was adjusted to 23 °C water temperature with adjustable thermostat heaters. After fifteen days adaptation period, temperatures of the two aquarium were dropped to 18 °C, while temperatures of the other two were upgrade to 28 °C. These groups were exposed to 0.036 µg/L concentration of deltamethrin for 14 days. At the end of the experimental period, the liver and gills were collected. Malondialdehyde (MDA) level as an indicator of lipid peroxidation, reduced glutathione (GSH) level and glutathione S-transferase (GST) activity were determined in these samples.

The MDA levels were increased in the liver and gill of the groups at 18 °C and 28 °C when compared to the control group. The liver and gill MDA levels of the groups treated deltamethrin simultaneously with the change in temperature were higher than the groups at 18 °C and 28 °C. This increase was also observed in the group treated deltamethrin at 23 °C.

The GSH levels and GST activities were decreased in the liver and gill of the groups at 18 °C and 28 °C when compared to the control group. The GSH level and GST activity of the groups treated deltamethrin simultaneously with the change in temperature were lower than the groups at 18 °C and 28 °C. This increase was also observed in the group treated deltamethrin at 23 °C.

Key words: Antioxidants, Fish, Glutathione-S-tranferase, Malondialdehyde, Oxidative stress, Reduced glutathione, Temperature.

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1.	Lipid peroksidasyon ve parçalanma ürünleri.....	9
Şekil 2.1.	Çalışmada kullanılan cam akvaryumlar	19
Şekil 3.1.	Kontrol ve deneme grubu balıklarının dokularındaki MDA düzeyi.	24
Şekil 3.2.	Kontrol ve deneme grubu balıklarının dokularındaki GSH düzeyi..	26
Şekil 3.3.	Kontrol ve deneme grubu balıklarının dokularındaki GST aktivitesi.....	28

TABLÖLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Araştırmada kullanılan kimyasal maddeler	16
Tablo 2.2. Araştırmada kullanılan araç ve gereçler	17
Tablo 3.1. Kontrol ve deneme grubu balıklarının dokularındaki MDA düzeyi.	23
Tablo 3.2. Kontrol ve deneme grubu balıklarının dokularındaki GSH düzeyi..	25
Tablo 3.3. Kontrol ve deneme grubu balıklarının dokularındaki GST aktivitesi.....	27



1. GİRİŞ

Balık yetiştiriciliği, dünyada hızla gelişen ve önem kazanan bir endüstri kolu haline gelmiştir. Ancak dışarıdan alınan pestisitler, ağır metaller, sıcaklık değişimleri, diyet tipleri, oksijen miktarı, parazitler ve farklı çevresel nedenler balıkta serbest radikallerin sebep olduğu oksidatif stresin artmasına dolayısıyla da ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Genellikle daha fazla ürün elde etmek amacıyla tarım ürünlerinde zararlı böceklerin ve hastalık etkeni olan vektörlerin kontrolü için pestisitler kullanılmaktadır (Abdollahi vd., 2004). Pestisitlerin gelişigüzel kullanımları sonucunda bozulan ekolojik denge nedeniyle de ticari önemleri büyük olan balıklar da dahil birçok hedef dışı tür olumsuz etkilenmektedir (Özcan Oruç ve Üner, 1999).

Pestisitler sulara, yağmur, drenaj, yüzey akışları, sulama kanalları, bu kanallarda yaşayan bitkilere karşı kullanılması ve sulara yapılan direkt uygulamalar sonucunda karışmakta ve balıkları etkilemektedir. Balıklarda toplu ölümlere neden olabileceği gibi, büyümelerinde azalma, strese yol açarak hastalıklara karşı duyarlı hale gelme gibi sonuçlar doğurarak balık popülasyonlarını olumsuz etkilemektedir. Ayrıca pestisitler balık vücudunda birikerek insanlara kadar ulaşabilmektedirler (Atamanalp ve Yanık, 2001; Karasu Benli ve Gülen, 2009).

Piretroit sınıfı pestisitlerden olan deltamethrin geniş bir aktiviteye sahip olmasından dolayı oldukça yoğun olarak kullanılmaktadır. Balıklar için oldukça toksik olup özellikle sinir ve solunum sistemini olumsuz yönde etkilemektedir. Bununla birlikte hematolojik, immunolojik, histopatolojik ve biyokimyasal olarak da negatif belirtiler göstermektedir (Yonar ve Sakin, 2011).

Lipid peroksidasyon, membranda bulunan doymamış yağ asitlerinin, serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehytler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Lipidlerin oksidasyonu sonucu lipid peroksil radikali, lipid alkoksil radikali, alkil radikali, lipid aldehid gibi peroksidasyon ürünleri meydana gelir. Lipid hidroperoksitlerinin yıkımı ile oluşan ve biyolojik olarak aktif olan aldehidler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler ya da başlangıçtaki etki alanlarından diffuze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Lipid peroksidasyonunun en önemli ürünü malondialdehit (MDA)'dır. Oluşan MDA hücre membranlarında iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi

olumsuz sonuçlara neden olur. Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiyobarbitürik asitle ölçülebilen MDA lipid peroksid seviyelerinin ölçülmesinde sıklıkla kullanılır (Morales vd., 2004).

Oksijen radikallerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizması mevcuttur. Bunlara 'antioksidan savunma mekanizmaları' ya da kısaca 'antioksidanlar' denir. Antioksidanlar serbest radikallere bir hidrojen iyonu vererek veya bu radikalleri kendilerine bağlayarak ya da onları daha zayıf bir moleküle çevirerek radikal hasarından vücudu korurlar. Antioksidan savunma sistemleri, birincil ve ikincil savunma sistemleri olmak üzere iki kategoride sınıflandırılırlar. Birincil savunma sistemleri antioksidan bileşikler ve antioksidan savunma enzimleri olmak üzere iki grubu içerir. Antioksidan bileşikler, glutatyon, β -karoten, ürik asit, C ve E vitaminlerini içerirken, antioksidan savunma enzimleri süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-PX) glutatyon-S-transferaz (GST) ve glutatyon redüktaz (GR)' dan oluşur. İkincil savunma sistemleri, lipolitik ve proteolitik enzimleri içerir. Her iki grup enzim de, hasar görmüş, değişmiş ya da bozulmuş yağ ya da proteinlerin temizlenmesiyle savunmada ikincil bir hat gibi görev alırlar. Bu proses reaktif hücrel bileşenleri uzaklaştırır, aksi taktirde ortamda daha fazla oksidatif reaksiyonlar meydana gelebilir (Kaya, 2005).

Deltamethrin' in farklı balık türlerinde farklı oksidan/antioksidan parametrelere etkisini araştıran birçok çalışma yapılmış ve bu pestisit oksidatif strese sebep olduğu belirlenmiştir. Fakat farklı su sıcaklıklarında bu pestisit pullu sazandaki oksidatif etkilerinin hangi düzeyde gerçekleştiğini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmayla farklı sıcaklıklarda tutulan pullu sazanda deltamethrin' in bazı antioksidan parametrelere etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu tez çalışması; Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi (FÜBAP) tarafından SÜF.16.04. nolu proje olarak desteklenmiştir.

1.1. Literatür Bilgisi

1.1.1. Su Sıcaklığı

Tüm canlı organizmalarda olduğu gibi balıklarda da tüm yaşamsal faaliyetler sıcaklıkla etkilenmektedir. Ovaryum ve yumurta gelişimi, bağışıklık sisteminin çalışması, canlı ağırlık kazanımı, osmoregülasyon gibi birçok yaşamsal faaliyet su sıcaklığının etkisi altındadır (Dikel, 2009).

Sıcaklık balıklar için fizyolojik açıdan kilit bir rol oynamaktadır. Balıklar poikilotermik yani değişken sıcaklıklı canlılardır. Başka bir ifadeyle bu tür canlıların vücut ısıları içinde bulundukları su sıcaklığı ile aynıdır. Bunun bir sonucu olarak balıkların içinde bulunduğu su sıcaklığı değişince vücut ısıları da değişmektedir. Tüm biyokimyasal işlemler sıcaklığa bağlı olarak gerçekleştiği için sıcaklıkta oluşacak her 10 °C'lik bir yükselme tür ve türün yaşamsal alanına bağlı olmak şartıyla biyokimyasal süreci yaklaşık iki katına çıkarmaktadır. Diğer taraftan oksijen ve oksijen tüketimi de sıcaklıkla etkilenmektedir. Oksijen tüketimi sıcaklığın maksimum noktasına kadar bir artış gösterdikten sonra sıcaklık artışı devamında orantılı bir şekilde azalır ve öldürücü sıcaklık noktasında biter (Dikel, 2009).

Sazanlar için optimum su sıcaklığı 23-24 °C arasındadır. Bu sıcaklığın altında üreme şansı bulunmamaktadır. 20 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda yem aldığından devamlı büyümektedir. Bu nedenle sıcaklığın düşük olduğu yerlerde 3-4 yılda pazar boyuna ulaşırken bu süre sıcak ülkelerde 1-1,5 yıla inmektedir. Bu açıdan Türkiye'de sazan üretimi açısından çok uygun koşullar mevcuttur (Çağiltay, 2007). Su sıcaklığının 27-28 °C ve üzerine çıkması gelişme ve yem alınımı üzerine negatif etki yaptığından balıklar olumsuz etkilenmektedir (Alpbaz, 2005).

1.1.2. Pestisitler

Suda yaşayan canlılarda birikime neden olan, sağlık açısından tehlike oluşturan ve ekolojik dengeyi bozan maddelerden yaygın olanları; pestisitler, bazı organik maddeler, endüstriyel atıklar, petrol ve türevleri, yapay tarımsal gübreler, radyoaktivite, deterjanlar, inorganik tuzlar, yapay organik kimyasal maddeler, ağır metaller ve atık gazlardır (Hu, 2000). Bunlardan pestisitler; canlı veya cansız maddeler üzerinde yaşayan ve besin maddelerinin üretimi, hazırlanması, depolanması veya tüketilmesi sırasında onların besin

değeri ve kalitelerini azaltarak veya bozulmalarına sebep olarak etkisini gösteren her türlü böcek, kemirici, yabancı ot, mantar, parazit vb., canlıları öldürmek amacıyla kullanılan bileşikler olarak tanımlanmaktadır. Bu maddeler canlı organizmaları öldürmek üzere üretildikleri ve kullanıldıkları için sucul hayat açısından potansiyel bir tehlike kaynağıdır (Lloyd, 1992).

Pestisitlerin su kaynaklarına geçmesi suda yaşayan canlıların ya da su kanallarında yaşayan bitkilerin ilaçlanmasıyla, yerleşim bölgelerindeki kanalizasyona ve lağım sularına karışmalarıyla veya pestisit imalat artıklarının deşarjı ile gerçekleşmektedir. Aynı zamanda yağmur suları, drenaj suları, yüzey akışları ve sulama kanallarına karışarak da kontamine olurlar. Yine örneğin sivrisinek mücadelesinde olduğu gibi sulara yapılan doğrudan uygulamalar sonucunda da su bitkileri veya dip çamurları tarafından tutulabilirler (Tuncer, 1987). Pestisitlerin su içerisindeki hareketliliği, formülüne ve kısmen de suda eriyebilirliğine bağlıdır. Suda eriyen veya suda eriyebilecek şekilde formüle edilenler su içerisinde kısa sürede çözünürken, toz ya da granül formunda bulunanlar su içerisinde askıda kalırlar ve uzun süre aktif maddelerinin yayılmasına neden olurlar (Toros ve Maden, 1991).

Balıklar, pestisitleri ya solungaçları aracılığıyla su ortamından absorbe ederek ya da kontamine materyalleri besin olarak tüketmeleri sonucunda etkilenirler yada zehirlenirler. Pestisitlerin balıklara olan etkileri değişik şekillerde görülebilir. Yumurta dökmeyi ve üremeyi durdurmak suretiyle olabileceği gibi direkt olarak öldürmek suretiyle de balık popülasyonu üzerinde etkili olabilmektedirler. Ayrıca dokularda meydana getirdikleri hasarlar nedeniyle balıklarda duyarlılığa yol açarak mevsimlik ısı değişimlerinden ve geçici açlıktan normalden daha fazla etkilenmesine sebep olmaktadır. Daha hassas olan yavru balıklar ise bu durumdan daha da fazla zarar görmektedir (Toros ve Maden, 1991). Balıklar için oldukça toksik olan deltamethrin'in, balıkların özellikle sinir ve solunum sistemini olumsuz etkilediği, bununla birlikte hematolojik, immunolojik, histopatolojik ve biyokimyasal olarak negatif etkiler gösterdiği belirlenmiştir (Yonar ve Sakin, 2011). Ayrıca balıkların türüne ve kullanılan pestisit kimyasal yapısına bağlı olarak pestisitlerin letal etkisinde değişiklik görüldüğü bildirilmektedir (Egemen ve Canyurt, 1996).

Pestisitler; aktif oldukları etkene göre (intektisitler, herbisitler, fungusitler, akarisitler, rodentisitler, pisisitler, avisitler, mollusisitler, nematositler), kimyasal tiplerine göre (organofosfatlar, N-metil karbamatlar, klorlu hidrokarbonlar, bisditiyokarbamatlar,

organotinler, botanik kökenli maddeler, arsenikler, fenoksialifatik asitler, piretroidler, fenol türevleri, mikrobiyaller), kalıcılıklarına göre (kalıcı olmayanlar, orta derecede kalıcı olanlar, kalıcı olanlar, sürekli kalıcılar) ve etki ettikleri canlıların gelişim evrelerine göre (larvisit, ovisit, adultusit) gruplara ayrılmaktadır (Güler ve Çobanoğlu, 1997). Bunlardan piretiroitler iki büyük gruba ayrılarak incelenebilir. Tip I piretiroitler (alletrin, permethrin, piretrin), Piretiroit esterlerinden alfa cyano grubu içermeyenlerdir. Tip II Piretiroitler (deltamethrin, cypermethrin) ise alfa cyano grubu içeren Piretiroit esterleridir. (Gray, 1985; Narahashi, 1985; Vijverberg ve De Weille, 1985). Piretiroit sınıfı pestisitlerden olan deltamethrin ise geniş bir aktiviteye sahip olmasından dolayı oldukça yoğun olarak kullanılmaktadır.

1.1.2.1. Deltamethrin

En aktif piretiroit pestisitlerden biri olan deltamethrin sentetik piretiroit bir insektisittir. Kimyasal adı (S)-alpha-cyano-3phenoxybenzyl (1R, 3R)-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-dimethyl-cyclopropanecarboxylate, kapalı formülü $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$ olan deltamethrin 1974 yılında geliştirilmiştir. Geniş spektrumlu insektisit aktivitesinden dolayı büyük oranda kabul gören, tarım ve ormancılıkta yaygın olarak kullanılan piretroidlerden biridir. Ancak balıkların sinir, solunum ve hematolojik sistemleri üzerinde birtakım zararlı etkilere neden olduğu da rapor edilmiştir. Deltamethrinin balıklar üzerindeki akut etkileri üzerine birtakım çalışmalar yapılmıştır. Deltamethrinin 96 saatlik LC50 değeri *Ctenopharyngodon idella*, *Cyprinus carpio*, *Esox lucius*, *Oncorhynchus mykiss*, *Tilapia nilotica*, *Clarias gariepinus*, *Cyprinodon macularius*, *Gambusia affinis*, ve *Tilapia mossambica* ve *Poecilia reticulata* türleri için belirlenmiştir (Kan, 2011).

Deltamethrin akarlar, karıncalar, kurtlar ve böcekler gibi zararlılara karşı *Gossypium hirsutum* (pamuk), *Zea mays* (mısır), *Glycine max* (soya fasulyesi) gibi çeşitli ürünlerde, tarım alanları dışında golf sahaları, süs bahçeleri, çim ve dış çevre gibi alanlarda çeşitli pestlere karşı da kullanılmaktadır. Deltamethrin, sinekler, antropotlar ve balıklar için son derece etkilidir, direkt teması ve canlı yenmesi halinde böceklerle karşı oldukça zehirlidir. Bununla birlikte, memelilerde ise metabolizması ve atılımı hızlı olduğu için toksitesi daha düşüktür (Karaismailoğlu, 2013).

1.1.3. Serbest Radikaller

Atomlarda bulunan elektronlar orbital üzerinde çift olarak bulunurlar. Birçok molekül çift elektronlu olduğu halde bazıları tek elektronlu yani eksik elektronludur. Eksik elektronlu bu moleküller ortamda bulunan diğer moleküllerle etkileşerek ya bir elektron alırlar ya da bir elektron verirler. Bu şekilde etkileşime girdiği maddenin yapısını bozan bu moleküllere serbest radikaller, oksidan moleküller ya da reaktif oksijen partikülleri denir (Delibaş ve Özcankaya, 1995; Benzer, 2001).

Oksidanlar tek elektron eksiklikleri nedeniyle başka moleküller ile kolayca elektron alışverişi yapabilen radikaller ve elektron eksikliği olmadığı halde başka moleküller ile radikallerden daha zayıf bir biçimde birleşebilen non-radikaller olmak üzere ikiye ayrılırlar. Moleküler oksijenden su oluşuncaya kadar meydana gelen radikaller; süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($\cdot OH$), alkoksil radikali ($RO\cdot$) ve peroksil radikali ($ROO\cdot$)'dir. Non-radikaller ise hidrojen peroksit (H_2O_2), lipid hidroperoksit ($ROOH$) ve hipokloröz asit ($HOCl$)'tir (Cheeseman ve Slater, 1993; Benzer, 2001).

Süperoksit radikalleri; tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucunda veya mitokondrial elektron transport zinciri, fagositoz yapan hücreler, çeşitli enzimatik reaksiyonlar, hücre membranlarının hasarıyla açığa çıkan arakidonik asit vasıtasıyla ya da indirgenmiş geçiş metallerinin ototoksikasyonu nedeniyle meydana gelirler. Bu radikallerin inaktive edilmesi ise süperoksit dismutaz adı verilen bir enzim ile gerçekleşmektedir (Mc Cord, 1983; Balık, 1986; Toker, 1990). Süperoksit bir serbest radikal olmasına rağmen kendisi direk olarak fazla zarar vermez. Fakat hidrojen peroksit (H_2O_2) kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olması onu oldukça önemli kılmaktadır (Cheeseman ve Slater, 1993; Benzer, 2001). Süperoksit radikalının fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ($NO\cdot$) ile birleşmesi sonucu reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit meydana gelir. Böylece $NO\cdot$ in normal etkisi inhibe edilir. Ayrıca, peroksinitritlerin doğrudan proteinlere zararlı etkileri vardır ve azot dioksit (NO_2^-), $\cdot OH$ ve nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi daha başka toksik ürünlere dönüşürler (Beckman ve Tsai, 1994).

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden 2 elektron alması veya süperoksit radikalının bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü 2 hidrojen atomu ile birleşerek H_2O_2 'i meydana getirir. H_2O_2 membranlardan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır (Delibaş ve Özcankaya, 1995; Benzer, 2001). H_2O_2 'in asıl üretimi biyolojik sistemlerdeki süperoksitin dismutasyonu ile gerçekleşir. İki süperoksit molekülü iki

proton alarak H_2O_2 ve O_2' i oluştururlar. Reaksiyon sonucunda radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir. H_2O_2 bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri içerisine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü H_2O_2 süperoksid ile reaksiyona girerek en reaktif ve zararlı serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali ($^{\bullet}OH$) oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir. Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu denir. Bu reaksiyon ya katalizör varlığında ya da katalizörsüz meydana gelebilir. Katalizörsüz reaksiyon oldukça yavaş ilerlerken demirle katalizlenen reaksiyon çok hızlıdır. Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe^{+3}) süperoksid radikali tarafından ferro demire (Fe^{+2}) indirgenir. Sonra bu ferro demir kullanılarak Fenton Reaksiyonu ile H_2O_2' den $^{\bullet}OH$ ve OH^- üretilir.

Hidroksil radikali; H_2O_2 'nin fotoliziyle, ozona elektron transferiyle, iyonlaştırıcı radyasyonun suya etkisi ve radikal tepkimelerle oluşabilen bir organik radikalın H_2O_2 ile tepkimeye girmesiyle üretilebilir. Ancak canlılarda $^{\bullet}OH$ üretimi bakımından en önemli tepkime Fenton tepkimesidir (Yonar vd., 2011).

Singlet oksijen (1O_2), ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Oksijenin elektronlarından birinin enerji olarak kendi spininin ters yönde olan başka bir orbitalle yer değıştirmesi ile oluşur. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiğı gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olur (Benzer, 2001).

Singlet oksijen hücre membranındaki poliansatüre yağ asitleriyle doğrudan reaksiyona girerek lipid peroksitlerin oluşumuna yol açar. Singlet oksijen diğerk moleküllele etkileştiğinde ya içerdiki enerjiyi transfer eder, ya da kovalent tepkimelere girer. Özellikle karbon-karbon çift bağıları singlet oksijenin tepkimeye girdiğı bağılardır. Doymamış yağ asitleri ile de doğrudan tepkimeye girerek peroksi radikalini oluşturur ve $^{\bullet}OH$ kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilir (Köse ve Doğan, 1992; Benzer, 2001).

1.1.3.1. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak oranlarda oluştukları zaman organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Serbest radikaller hücrelerde lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm yaşamsal bileşiklere zararlı bir şekilde etki ederler. Mitokondrideki aerobik solunumu ve kapiller permeabiliteyi bozdukları gibi, hücrenin potasyum kaybını ve trombosit agregasyonunu artırırklar. Proteaz,

fosfolipaz, elastaz, siklooksijenaz, ksantin oksidaz, lipooksijenaz, triptofan dioksijenaz ve galaktoz oksidaz gibi enzimlerin aktivitelerini inhibe ederek savunma sistemlerini negatif etkilerler.

Doymamış yağ asitleri (PUFA)'lerine kıyasla proteinler serbest radikal etkisine karşı daha az hassastırlar. Dolayısıyla başlayan zarar verici zincir reaksiyonlarının hızla ilerleme ihtimali daha düşüktür. Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme derecesi amino asit kompozisyonuna bağlıdır. Şöyle ki; doymamış bağ ve sülfür ihtiva eden moleküllerin serbest radikallerle aktivitesi yüksek olduğu için triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden daha kolay bir şekilde etkilenirler. Bunun sonucu olarak da özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller ortaya çıkar.

Enzimler protein yapısında olduklarından enzim aktivitelerinde değişiklikler meydana gelir. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobin $O_2^{\cdot-}$ veya H_2O_2 ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna sebep olur (Cheeseman ve Slater, 1993; Akkuş, 1999; Dikici, 1999).

Serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. $\cdot OH$ radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere neden olurlar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan H_2O_2 membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücrede fonksiyon bozukluğuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. Bu yüzden DNA, serbest radikallerden kolay zarar görebilen önemli bir hedeftir (Cheeseman ve Slater, 1993).

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu H_2O_2 , peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (Knight, 1995; Benzer, 2001).

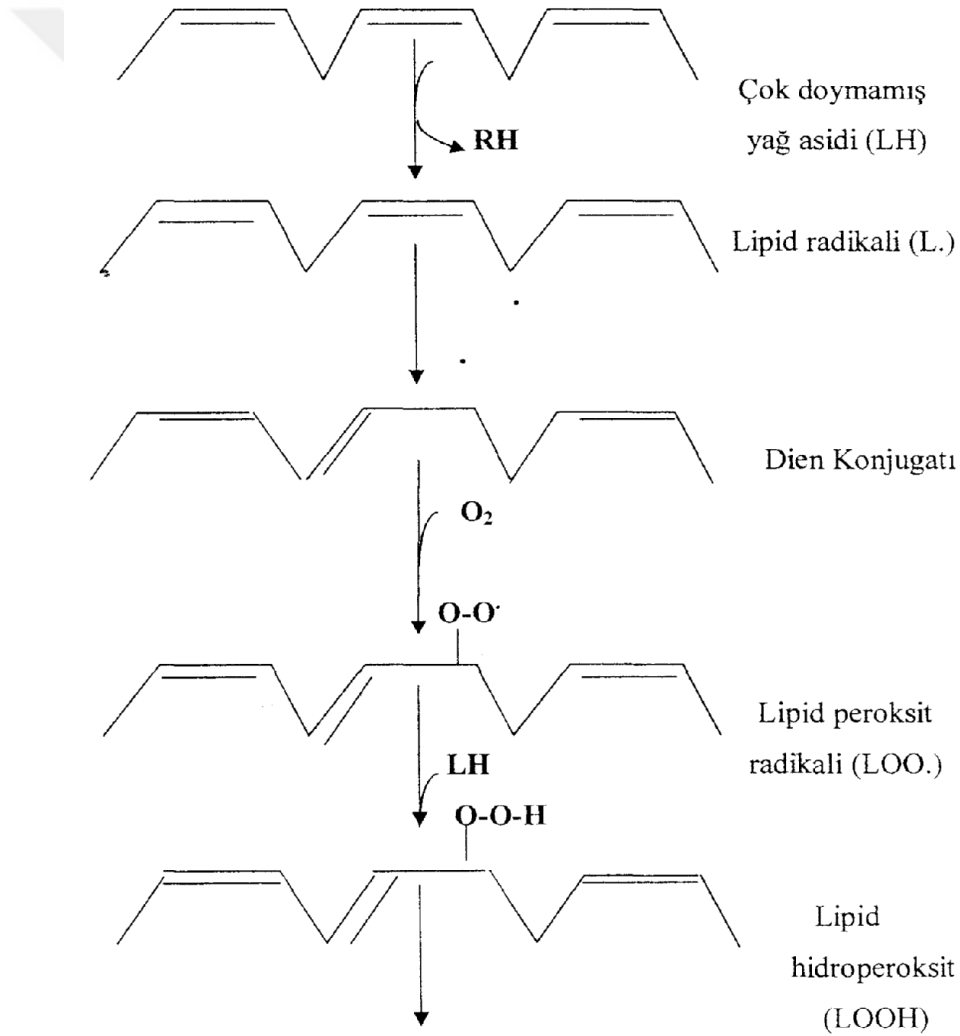
1.1.3.2. Lipid Peroksidasyon

Hücre zarında bulunan yağlı moleküller serbest radikaller tarafından hücumu uğradığında hücre zarındaki lipitlerden bir elektron alınır ve lipid peroksit radikali meydana gelir (Şekil 1.1) (Benzer, 2001).

Lipid peroksidasyonu sırasında oluşan aldehitlerden malondialdehit ve 4-hidroksi-nonenal oluşum yerlerinden kolayca difuz edilerek hücrenin diğer bölümlerinde hasara

yol açar. Peroksidasyon sonucu oluşan malondialdehit, membran bileşenlerinin çapraz bağlanmalarına ve polimerizasyonuna yol açar. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre bileşenlerinin özelliklerinin değişmesine sebep olur (Akkuş, 1999).

Metal iyonlarının serbest radikal reaksiyonlarındaki asıl önemi lipid peroksidasyonundaki etkileriyle ilgilidir. Geçiş metalleri lipid peroksidasyonunu başlatmaktan çok, sentezlenmiş olan lipid hidroperoksitlerinin parçalanmalarını ve lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonlarını katalize ederler. Böylece daha az zararlı olan radikalleri daha zararlı hale getirirler.



Şekil 1.1. Lipid peroksidasyon ve parçalanma ürünleri (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilendikleri halde lipidler en hassas olanlarıdır. PUFA'ların oksidatif yıkımı lipid peroksidasyon olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler (Köse ve Doğan, 1992; Benzer, 2001).

Lipid peroksidasyonu organizmadaki bir serbest radikal etkisiyle membran yapısındaki PUFA zincirinden bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlar. Bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipid radikali özelliği kazanır. Oluşan lipid radikali (L[•]) dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesi ile dien konjugantları oluşur ve daha sonra lipid radikalinin moleküler oksijenle etkileşimi sonucu lipid peroksit (LOO[•]) radikali meydana gelir. Lipid peroksil radikalleri membran yapısındaki diğer PUFA' yı etkileyerek yeni zincir tepkimelerini başlatırken kendileride açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerine (LOOH) dönüşürler. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder.

Lipid peroksidasyonu ya toplayıcı reaksiyonlarla sonlandırılır ya da otokatalitik yayılma reaksiyonları ile devam eder. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan lipid hidroperoksitleri yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler ya da başlangıçtaki etki alanlarından diffuze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyondur. Direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak reaktif aldehitler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece bir çok hastalığa ve doku hasarına sebep olur (Köse ve Doğan, 1992; Akkuş, 1999; Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999; Benzer, 2001).

1.1.3.3. Malondialdehit (MDA)

Lipid hidroperoksitlerinin yıkımı ile oluşan ve biyolojik olarak aktif olan aldehidler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffuze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Lipid peroksidasyonunun en önemli ürünü malondialdehit (MDA)' tir. Oluşan MDA hücre membranlarında iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar, iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiyobarbitürik asitle

ölçülebilen MDA lipid peroksid seviyelerinin ölçülmesinde sıklıkla kullanılır (Morales vd., 2004).

Normal metabolik şartlarda asetat veya malonata kadar okside olan üç karbonlu bir ketoaldehit olan MDA, daha sonra kreps döngüsü ile CO₂'e indirgenerek atılır. MDA konsantrasyonu, aşırı lipit peroksidasyonu sonucunda artarak dokulara hasar vermektedir (Murray vd., 1996; Kalender vd., 2002).

1.1.4. Balıklarda Antioksidan Savunma Sistemi

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirmiş olduğu hasarları önlemek için birçok savunma mekanizması bulunmaktadır. Bu yapılar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinmektedir.

Antioksidanlar; hücre içi ve hücre dışı enzim ve enzim olmayan (non-enzim) savunma mekanizmaları geliştirerek organizmayı oksijenin dejenarasyonuna ve düşük molekül ağırlıklı serbest radikal tahribatına karşı korurlar (McLean vd., 2005).

Bütün aerobik organizmalar gibi balıklarda da oksidatif stresi ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar antioksidan savunma sistemleri olarak bilinirler ve enzimatik karakterdeki süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon-S-tarnsferaz (GST) ile enzimatik olmayan redükte glutatyon (GSH), A, E, C vitaminleri, selenyum ve melatonin gibi maddelerden oluşurlar (Dautremepuits vd., 2003; Trenzado vd., 2006).

Balıkların antioksidan savunma mekanizmaları; konakçı dokusunda hasara neden olan etkenleri ortadan kaldıran veya yayılmasını sınırlayan, enfeksiyonun meydana gelmesini önleyen ya da enfeksiyona karşı vücudun yanıt vermesini sağlayan faktörlerin bir çoğunu içine almaktadır (McDowell 1989; Blazer 1992).

Balıkların özellikle karaciğer, solungaç, sindirim kanalı, deri, kalp, kas, ve kanında yüksek antioksidan aktivite belirlenmiştir (Trenzado vd., 2006). Fakat katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktivitesinin memelilere oranla balıklarda daha düşük olduğu bildirilmiştir (Martinez vd., 2005).

Balıkların yaşları ile antioksidan savunma sistemleri arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar yapılmış ancak açık bir ilişki bulunamamıştır. Ancak balıklarda yaş ilerledikçe radikal üretimin arttığı ve antioksidan sistemin ise gerilediği saptanmıştır (Martinez vd., 2005).

Balıkların antioksidan savunma sistemlerinin balığın beslenme davranışlarına ve beslenme faktörlerine bağlı olduğu da bildirilmiştir. Herbivor balıklarda süperoksit dismutaz aktivitesi ile lipid peroksidasyon oluşumu omnivor balıklara göre daha yüksek iken glutatyon peroksidaz ve katalaz aktivitesi ise daha düşük bulunmuştur. Ayrıca diyetlerdeki lipid ve vitamin miktarının balıklarda oksidatif durumu ve antioksidan savunmalarını etkilediği bildirilmiştir (Radi vd., 1985; Martinez vd., 2005).

Balıkların antioksidan savunma sistemini etkileyen faktörler arasında çevresel şartlar, balık davranışları ve mevsimsel değişimler sayılabilir. İlkbaharda balıklardaki antioksidan savunma sisteminin sonbahara nazaran daha aktif olduğu, en önemli değişikliğin ise süperoksit dismutaz aktivitesinde görüldüğü bildirilmiştir (Gabryelak vd., 1983; Martinez vd., 2005).

Genel olarak abiyotik, biyotik faktörler, yaş, beslenme alışkanlıkları, sıcaklık, çözünmüş oksijen, sulardaki toksinlerin varlığı, hastalıklar, balıklardaki antioksidan savunma sistemini olumlu veya olumsuz etkileyebilir (Martinez vd., 2005).

1.1.5. Glutatyon

Glutatyon (GSH), genetik bilgiye ihtiyaç duyulmadan karaciğerde sentezlenebilen glutamat (Glu), sistein (Cys) ve glisinden (Gly) oluşmuş bir tripeptittir. Glu ile Cys bir γ -peptid bağı ile bağlıdır. Glutatyon serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı koruyan çok önemli bir antioksidandır. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Glutatyon yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve aminoasitlerin membranlardan transportunu da sağlar. Glutatyon eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir (Beutler vd., 1963, Piner, 2005).

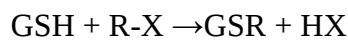
Hücrelerde iki formda bulunur. Bunlardan birincisi ve aktif formu olan indirgenmiş glutatyon (GSH) hücrelerde baskındır. İkincisi ise okside glutatyon (GSSG) formu olup okside koşullarda iki molekül GSH arasında disülfid bağı kurulmasıyla meydana gelir (Pena Llopis vd., 2001).

Düşük moleküler ağırlıklı, sülfür içeren GSH gibi bileşikler kolaylıkla okside ve hızlı bir şekilde rejenere edilebildikleri için birçok biyokimyasal ve farmakolojik reaksiyonda önemli bir rol oynarlar (Piner, 2005).

Glutasyon, peroksidaz enzim ailesinin bir kofaktörü olmasının yanısıra, askorbik asit metabolizmasını, hücreler arası iletişimin sürdürülmesini sağlayan, genel olarak proteinlerin sülfidril (-SH) gruplarının okside olmasını ve çapraz bağlanmasını engelleyen diğer birçok metabolik süreçte yer almaktadır. Ayrıca hücre içi bakır transportunda da işlev görür, GSH bakır iyonları ile şelatlar oluşturur ve bunların serbest radikal oluşturma kapasitelerini azaltır. GSH koruyucu bir ajan olarak lökoeritrin sentezinde yer alan enzimler ve glioksilazları da içeren farklı metabolik yollarda çalışan bazı enzimler için kofaktör olarak rol oynar. GSH protein katlanmasında ve insülin gibi disülfid bağları taşıyan proteinlerin yıkılmasında da rol alır. GSH hücre bölünmesi ve immün yanıtın düzenlenmesi gibi görevlerinin yanı sıra prostaglandin metabolizmasının regülasyonun da rol oynamaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Piner, 2005). Diğer taraftan GSH toksik bileşiklerle non-enzimatik veya GST ile enzimatik olarak GSH konjugatları oluşturmak üzere reaksiyona girer (Anderson, 1998).

1.1.6. Glutasyon S-Transferazlar

Glutasyon S-transferaz (GST; EC 2.5.1.18)'lar, GSH ile elektrofilik bileşikler arasındaki konjugasyonu katalizleyen, ksenobiyotik ve endojen bileşiklerin detoksifikasyonu ile biyotransformasyonunda görevli faz II biyotransformasyon multigen enzim ailesinin üyeleridir (Hamed vd., 2003). Girdiği reaksiyon sonucunda, bileşiğin hidrofilitesi artar ve molekülün lipid tabakası içerisindeki dağılımı artar. Böylece hücre içi birikimi engellenmiş olur. Enzimin sudaki çözünabilir formları, moleküler ağırlığı 25 kDa olan alt ünitelerden oluşmuş dimerik yapıli proteinlerden meydana gelmiştir. Dimerik enzimin her bir alt ünitesi farklı iki fonksiyonel bölgeyi içeren aktif bir merkeze sahiptir. Hidrofilik G bölgesi fizyolojik substrat GSH'ı bağlarken komşu H bölgesi ise farklı yapıdaki elektrofilik substratların bağlanması için hidrofobik bir ortam yaratır. G bölgesi yüksek GSH spesifitesinden dolayı bütün GST'lerde oldukça benzerdir. H bölgesi GST'ler arasında tamamen farklı yapıda olup substrat bağlama kapasitesi ve çeşitliliği son derece değişkendir. GST'ler aşağıdaki gibi bir reaksiyonu katalizlemektedirler.



Enzimin iki temel fonksiyonu şu şekildedir. Birincisi aktif merkezine hem GSH hem de elektrofilik substratı bağlayarak GSH ile substratın etkileşimi sağlamaktır. İkincisi

ise glutatyonun sülfidril grubunu aktive ederek GSH'ın elektrofilik substrat üzerindeki nükleofilik atağını gerçekleştirmektedir (Armstrong, 1997). Substratların elektrofilik fonksiyonel merkezleri genellikle karbon, nitrojen veya sülfürdür. GSH'ın sistein rezidüsü ile elektrofilik substrat arasında kurulan tiyoeter bağı genellikle daha az reaktif ve suda daha çok çözünebilir ürünlerin oluşumuyla sonuçlandığı için; GST reaksiyonları genellikle detoksifikasyon mekanizmalarıdır (Eaton ve Bammler, 1999).

Bitkiler, hayvanlar, omurgalılar, omurgasızlar ve bakteriler GST'lere sahiptirler. Detoksifikasyonun yoğun olduğu bölgelerde yüksek aktivite gösterirler ve endoplazmik retikulum membranı ile nükleustaki interkromatin bölgede yerleşiktirler. Ancak; enzimin en çok bulunan formları, homo veya heterodimerik yapıdaki sitoplazmik GST'lerdir. GST'ler merkaptürik asit biyosentezinin başlangıç reaksiyonlarına aracılık ederler. Merkaptürik asit biyosentezi başlangıçta GSH konjugatıyla başlayan ve daha sonra γ -GT tarafından glutamik asitin uzaklaştırılmasıyla noktalan, sisteinilglisin konjugatının oluşumuyla süren birkaç basamaktan oluşmaktadır. Bu reaksiyonu glisinin uzaklaştırılması ile sisteinil S- konjugatının yani pre-merkaptürik asidin oluşumu takip eder. N-asetiltransferazlar tarafından sisteinil S-konjugatının asetilasyonu N-asetil türevi olan merkaptürik asit oluşumu ile sonuçlanır (Leblanc ve Dauterman, 2000).

GST'ler; çevre kirleticilerinden ilaçlara, karsinojenlerden pestisidlere kadar birçok bileşiği metabolize ederler. GST ile reaksiyona girecek ksenobiyotiklerin hidrofobik olma, elektrofilik bir atom çekirdeği içermesi ve GSH ile enzimatik olmayan koşullarda reaksiyona girebilme özelliklerine sahip olması gerekir. GST'lerin diğer bir fonksiyonu, lipid peroksitlerinin bozulma ürünleriyle GSH arasındaki konjugasyonda antioksidan görev almasıdır. Balıklar için organik hidroperoksitlerin detoksifikasyonunda GST'ler GSH-Px'ten çok daha gereklidir (Stephensen vd., 2002). GSH-Px'ten farklı olarak H_2O_2 için inaktif olan GST'ler; sadece organik hidroperoksitleri indirgerler ve selenyumdan bağımsız olarak iş görürler (Cnubben vd., 2001; Sen ve Packer, 2000). Selenyum eksikliği durumunda GST devreye girerek kayıp selenyuma bağımlı GSH-Px aktivitesinin boşluğunu doldururlar. Selenyum varlığında ise enzimin bu görevi baskılanmaktadır (Leblanc ve Dauterman, 2000).

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Çalışma Alanı

Araştırma, Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde bulunan balık havuzlarında ve Balık Hastalıkları Laboratuvarı'nda yürütüldü. Araştırmada 33 x 100 x 60 cm boyutlarındaki 18 akvaryum kullanıldı.

2.1.2. Balık

Çalışmada, DSİ IX. Bölge Müdürlüğü Keban Su Ürünleri Şube Müdürlüğü'nden temin edilen, yaklaşık ağırlığı 30 ± 5 g ve boyu 10 ± 2 cm olan 0+ yaş grubundaki 180 adet pullu sazan (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) kullanıldı.

2.1.3. Deltamethrin

Araştırmada ticari bir firmadan temin edilen kimyasal formülü (S)-alpha-cyano-3-phenoxybenzyl (1R, 3R)-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate olan deltamethrin (DECIS 2.5 EC, Bayer) kullanıldı.

2.1.4. Araştırmada Kullanılan Araç-Gereçler ve Kimyasal Maddeler

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

Tablo 2.1. Araştırmada kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal Madde	Katalog Numarası
2-Thiobarbituric acid, (TBA)	Merck 1.08180.0025
Trikloroasetik asit (TCA)	Merck 807
Perklorik asit	Fluka 34288
Sodyum Klorür (NaCl)	Sigma –aldrich 13423
Metaphosphoric Acid	ABCR AB 125903
Disodyum etilendiamintetraasetik asit dihidrat (EDTA)	Sigma E5134
Disodyum hidrojen fosfat (Na ₂ HPO ₄)	Merck 6580
5,5'-Dithiobis (2- nitrobenzoic acid)	AppliChem 69-78-3
Sodyum sitrat	Merck 1.06448.1000
Potasyum dihidrojen fosfat (KH ₂ PO ₄)	Merck 4873
Sodyum azide (NaN ₃)	Riedel 35088
Hidrojen peroksit (% 37)	Merck 1.00314
Sodyum hidroksit (NaOH)	Sigma S-0899
Sodyum karbonat (Na ₂ CO ₃)	Merck 1.06398.1000
Potasyum sodyum tartarat	Merck 8085.1000
Bakır-2-sülfat	Merck 1.02787
Folin ciocalteu phenol	Sigma F9252
GSH (Redükte glutatyon)	Sigma G4251
Dinitroklorobenzen (CDNB)	ABCR AB 114728
Kalsiyum Klorür (CaCl ₂)	Sigma -aldrich 12022
Trizma (Tris) (HoCH ₂) ₃ (CNH) ₂	Merck 1.08387.0500

Tablo 2.2. Araştırmada kullanılan araç ve gereçler

Kullanılan araç ve gereçler	
Balon joje (5, 10, 25, 50 ml)	Isolab
Beher (25, 50, 100 ml)	Isolab
Erlen (25, 50, 100, 250 ml)	Isolab
Cam tüp (16x100 mm)	Isolab
Muayene Eldiveni	Nimo
Mavi ve sarı pipet ucu	BRAND
Mikro pipet (0.1-10, 10-100, 100-1000 µl)	BRAND
Spektrofotometre küveti (normal ve kuvartz)	Q-104
Hassas terazi (0,01 g hassasiyetli)	
Hassas terazi (0,001 g hassasiyetli)	Shimadzu- UW 620 H
Homojenizatör	WiseStir HS-30E
Bidistile su cihazı	NÜVE NS 108
Manyetik karıştırıcı	Colara Magnetomix
Soğutmalı santrifüj	NÜVE NF 800 R
-20°C soğutucu	Uğur Derin Dondurucu
Spektrofotometre	Aquamete Spectronic Unicam
ICP-OES	Optima 2000DV
Su banyosu	Nüve ST 402
Vorteks	Velp Scientifica 10.0176

2.2. Metot

2.2.1. Deneysel Plan

Çalışmada canlı olarak temin edilen pullu sazan (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) örnekleri, 33 x 100 x 60 cm ebatlarında ve su sıcaklığı ayarlanabilir ısıtıcılarla 23 °C' ye ayarlanmış 18 farklı cam akvaryuma her birine 10 adet olacak şekilde yerleştirildi (Şekil 2.1).

15 günlük adaptasyon süresinden sonra, balıkların yerleştirildiği akvaryumlardan 2' sinin sıcaklığı 18 °C' ye düşürülürken, diğer ikisinin ise 28 °C' ye yükseltildi. Bu işlem her iki saatte bir sıcaklığın 1 °C azaltılması/arttırılması şeklinde yapıldı. Böylece 18, 23 ve 28 °C su sıcaklığına sahip aşağıdaki gruplar oluşturularak deltamethrin uygulandı.

Grup 1 (18 °C): 18 °C sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanmayan balıklar,

Grup 2 (23 °C): 23 °C sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanmayan balıklar (Kontrol grubu),

Grup 3 (28 °C): 28 °C sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanmayan balıklar,

Grup 4 (18 °C + DM): 18 °C sıcaklıkta tutulan ve 0.036 µg/L konsantrasyonunda deltamethrin uygulanan balıklar,

Grup 5 (23 °C + DM): 23 °C sıcaklıkta tutulan ve 0.036 µg/L konsantrasyonunda deltamethrin uygulanan balıklar,

Grup 6 (28 °C + DM): 28 °C sıcaklıkta tutulan ve 0.036 µg/L konsantrasyonunda deltamethrin uygulanan balıklar.

Çalışma sırasında su sıcaklığının ayarlanan seviyelerde sabit kalarak süreklilik göstermesi için günde 4 defa ölçüm yapıldı.

Sazanlar için optimum su sıcaklığı 22-24 °C olduğu için (Çelikkale, 1994), 23 °C sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanmayan balıklar kontrol grubu olarak seçildi. Deltamethrin konsantrasyonu (0.036 µg/L; LC₅₀ değerinin yaklaşık 1/2' si) ise Köprücü ve Aydın (2004)' e göre belirlendi. Çalışma 3 tekrarlı olarak yürütüldü ve her bir tekrar için 60 adet olmak üzere toplamda 180 balık kullanıldı.

Araştırma 14 gün sürdü ve çalışmanın 3., 7. ve 10. günlerinde akvaryum sularının 2/3' ü sifonlama yapılarak değiştirildi. Eksilen sular daha önceden sıcaklıkları 18, 23 ve 28

°C' ye ayarlanmış sularla tamamlandı. Ayrıca bu günlerde deltamethrin konsantrasyonu da yenilendi.



Şekil 2.1. Çalışmada kullanılan akvaryumlar

2.2.2. Biyokimyasal Analizler

2.2.2.1. Doku Örneklerinin Alınması ve Homojenatların Hazırlanması

Çalışmanın sonunda her gruptaki balıklar benzocain (25mg/L) ile anestezi edildi. Anesteziden sonra klinik muayeneyi takiben usulüne uygun bir şekilde otopsi yapılan (Arda vd., 2005) balıkların karaciğeri ve solungaçları çıkarılarak folyolara sarıldı ve - 20 °C' de derin dondurucuda muhafaza edildi. Karaciğer ve solungaç örnekleri 30 gün içerisinde işlendi.

Karaciğer ve solungaç örneklerinde antioksidan parametrelerin belirlenmesi için homojenatlar hazırlandı. Bunun için örnekler serum fizyolojik (% 0,09 NaCl) ile yıkandı, iki süzgeç kağıdı arasında suyu alındıktan sonra %1.15'lik KCl içinde 1:10 oranında sulandırılarak homojenize edildi. Elde edilen homojenatların 50 ml'lik propilen tüplerde

soğutmalı santrifüjde 3200 rpm'de +4 °C'de 10 dakika santrifüjünden sonra süpernatantları alındı.

2.2.2.2. MDA Düzeyinin Belirlenmesi

Karaciğer ve solungaç örneklerinin malondialdehit (MDA) düzeylerinde meydana gelen değişimler Placer vd. (1966)' dan modifiye edilen yöntemle göre spektrofotometrik olarak ölçüldü. Buna göre doku örneklerinden 0,25 ml alınarak üzerine 2.25 ml renk ayırıcı (TBA ve TCA) ilave edildi. Karışım 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek 20 dakika kaynar su banyosunda bekletildi ve 532 nm' de spektrofotometrede köre karşı okundu.

2.2.2.3. GSH Düzeyinin Belirlenmesi

GSH tayini Ellman (1959) tarafından bildirilen metotla yapıldı. Buna göre, karaciğer ve solungaç örnekleri çöktürücü solüsyonla (metafosforik asit, etilendiamintetraasetik asit (EDTA), sodyum klorür (NaCl)) çöktürüldü ve 3000 rpm' de 20 dakika santrifüj edildi. Süpernatantlar alınarak üzerine Ellman ayırıcı ve disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4) ilave edilerek 412 nm' de köre karşı okundu.

2.2.2.4. GST Aktivitesinin Belirlenmesi

GST aktivitesi, 1-kloro-2,4-dinitrobenzenin (CDNB), GSH ile konjugasyonu sırasında 0. ve 2. dakikalardaki absorbans farkının 340 nm dalga boyunda okunması ile ölçüldü (Habig vd.,1974).

2.2.2.5. Protein Düzeyinin Belirlenmesi

Doku protein miktarları GST spesifik enzim aktivitesi ile MDA ve GSH düzeylerini hesaplamak amacıyla Lowry vd. (1951) tarafından tarif edilen yöntemle göre ölçüldü.

2.2.3. İstatistiksel Analizler

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



3. BULGULAR

Çalışmaya başlamadan önceki 15 günlük adaptasyon sürecinde pullu sazanlarda herhangi bir ölüm olayına rastlanmadı. Adaptasyon ve deneme süresi boyunca yem alımlarında herhangi bir aksaklık yaşanmadı. Deneme süresi boyunca kontrol ve deneme grubu balıklarında ölüm gözlenmedi. Su sıcaklığının ayarlanan seviyelerde sabit kaldığı ve değişiklik göstermediği tespit edildi.

Bu çalışmada farklı sıcaklıklardaki sulara ilave edilen deltamethrinin pullu sazanların karaciğer ve solungaç dokularındaki MDA ve GSH düzeyleri ile GST aktiviteleri üzerine olan etkisi belirlendi.

3.1. MDA Düzeylerindeki Değişimler

Kontrol ve deneme grubu balıklarının karaciğer ve solungaç MDA düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu (23 °C) balıklarının karaciğerinde MDA düzeyi $1,75 \pm 1,49$ nmol/g protein olarak belirlendi. 18 °C ve 28 °C sıcaklıkta tutulan fakat deltamethrin uygulanmayan balıklarda MDA düzeyleri sırasıyla $3,21 \pm 1,39$ ve $4,09 \pm 1,56$ nmol/ g protein değerlerine yükseldi. Bu artışlar sırasıyla % 83,42 ve % 133,71 şeklinde gerçekleşti ve istatistiksel olarak önemli bulundu. Kontrol grubuna kıyasla 18 °C, 23 °C ve 28 °C sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanan balıkların karaciğerinde MDA düzeyleri sırasıyla $6,06 \pm 1,74$, $3,24 \pm 1,01$ ve $7,34 \pm 1,82$ nmol/g protein değerlerine yükseldi. Bu artışlar her üç grupta da istatistiksel olarak önemli bulundu ve sırasıyla % 246,28, % 85,14 ve % 319,42 olarak gerçekleşti ($p < 0,05$, Tablo 3.1. ve Şekil 3.1.).

Kontrol grubu (23 °C) balıklarının solungacında MDA düzeyi $2,02 \pm 0,90$ nmol/g protein olarak belirlendi. 18 °C ve 28 °C sıcaklıkta tutulan fakat deltamethrin uygulanmayan balıklarda MDA düzeyleri sırasıyla $2,58 \pm 1,22$ ve $4,61 \pm 1,87$ değerlerine ulaştı. Bu artışlar sırasıyla % 27,72 ve % 128,21 şeklinde gerçekleşti ve istatistiksel olarak önemli bulundu. Kontrol grubuna kıyasla 18 °C, 23 °C ve 28 °C sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanan balıkların solungacında MDA düzeyleri sırasıyla $5,11 \pm 1,30$, $4,54 \pm 1,33$ ve $8,21 \pm 1,77$ nmol/g protein değerlerine yükseldi. Bu artışlar her üç grupta da istatistiksel olarak önemli bulundu ve sırasıyla % 152,97, % 124,75 ve % 306,43 olarak gerçekleşti ($p < 0,05$, Tablo 3.1. ve Şekil 3.1.).

Yalnız sıcaklığın azaldığı (18 °C) ve arttığı (28 °C) gruplarda karaciğer ve solungaç MDA düzeyleri kontrol grubu (23 °C)' na göre artarken, sıcaklıktaki değişimle eşzamanlı olarak deltamethrin uygulanan gruplar (18 °C + DM ve 28 °C + DM)' da MDA düzeyleri daha fazla arttı. Bu artış sıcaklığın 23 °C' de kaldığı ve deltamethrin uygulanan grup (23 °C + DM)' ta da gözlemlendi.

Tablo 3.1. Kontrol ve deneme grubu balıklarının dokularındaki MDA düzeyi (Ortalama $\pm$ standart hata, nmol/g protein).

Gruplar	Karaciğer	Solungaç
18 °C	3,21 $\pm$ 1,39 ^b	2,58 $\pm$ 1,22 ^a
23 °C (Kontrol)	1,75 $\pm$ 1,49 ^a	2,02 $\pm$ 0,90 ^a
28 °C	4,09 $\pm$ 1,56 ^c	4,61 $\pm$ 1,87 ^b
18 °C + DM	6,06 $\pm$ 1,74 ^d	5,11 $\pm$ 1,30 ^c
23 °C + DM	3,24 $\pm$ 1,01 ^b	4,54 $\pm$ 1,33 ^b
28 °C + DM	7,34 $\pm$ 1,82 ^e	8,21 $\pm$ 1,77 ^d

18 °C: 18 °C sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanmayan balıklar,

23 °C: 23 °C sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanmayan balıklar (Kontrol grubu),

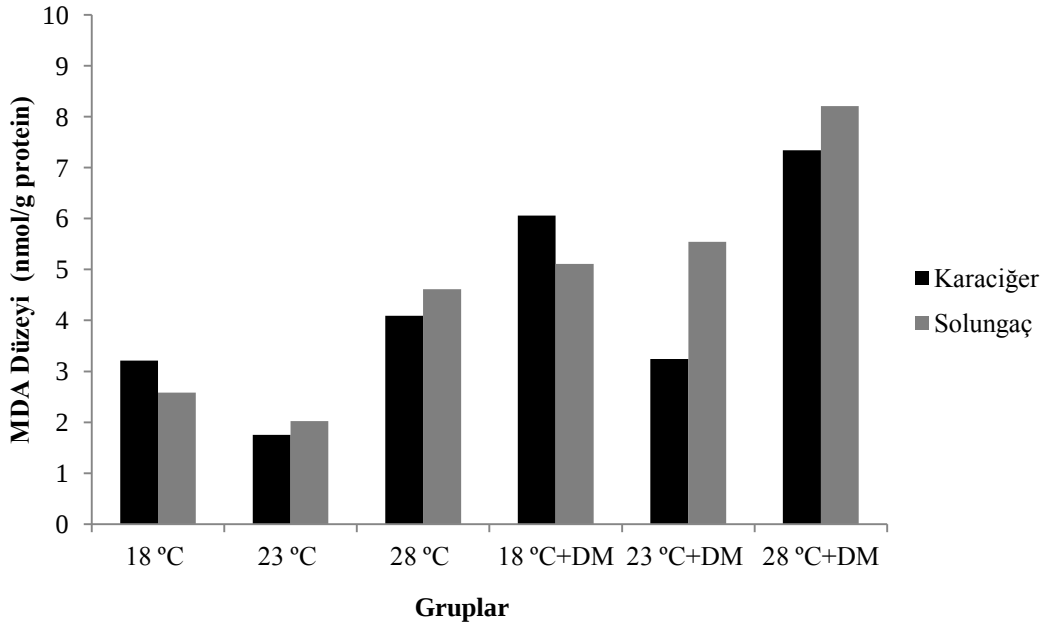
28 °C: 28 °C sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanmayan balıklar,

18 °C + DM: 18 °C sıcaklıkta tutulan ve 0.036 µg/L konsantrasyonunda deltamethrin uygulanan balıklar,

23 °C + DM: 23 °C sıcaklıkta tutulan ve 0.036 µg/L konsantrasyonunda deltamethrin uygulanan balıklar,

28 °C + DM: 28 °C sıcaklıkta tutulan ve 0.036 µg/L konsantrasyonunda deltamethrin uygulanan balıklar.

^{a,b,c,d,e} Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 3.1. Kontrol ve deneme grubu balıklarının dokularındaki MDA düzeyi (Ortalama $\pm$ standart hata, nmol/ g protein)

3.2. GSH Düzeylerindeki Değişimler

Kontrol ve deneme grubu balıklarının karaciğer ve solungaç GSH düzeylerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu (23 °C) balıklarının karaciğerinde GSH düzeyi $39,23 \pm 5,90$ $\mu\text{mol/g}$ protein olarak belirlendi. 18 °C ve 28 °C sıcaklıkta tutulan fakat deltamethrin uygulanmayan balıklarda GSH düzeyleri sırasıyla $30,75 \pm 6,43$ ve $23,86 \pm 5,07$ $\mu\text{mol/g}$ protein değerlerine indi. Bu azalmalar sırasıyla % 21,61 ve % 39,17 şeklinde gerçekleşti ve istatistiksel olarak önemli bulundu. Kontrol grubuna kıyasla 18 °C, 23 °C ve 28 °C sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanan balıkların karaciğerinde GSH düzeyleri sırasıyla $11,13 \pm 3,03$, $16,30 \pm 4,91$ ve $9,95 \pm 2,68$ $\mu\text{mol/g}$ protein değerlerine indi. Bu azalmalar her üç grupta da istatistiksel olarak önemli bulundu ve sırasıyla % 71,62, % 58,45 ve % 74,63 olarak gerçekleşti ($p < 0,05$, Tablo 3.2 ve Şekil 3.2).

Kontrol grubu (23 °C) balıklarının solungacında GSH düzeyi $15,70 \pm 2,62$ $\mu\text{mol/g}$ protein olarak belirlendi. 18 °C ve 28 °C sıcaklıkta tutulan fakat deltamethrin uygulanmayan balıklarda GSH düzeyleri sırasıyla $12,53 \pm 1,99$ ve $9,73 \pm 1,47$ $\mu\text{mol/g}$ protein değerlerine indi. Bu azalmalar sırasıyla % 20,19 ve % 38,02 şeklinde gerçekleşti ve istatistiksel olarak önemli bulundu. Kontrol grubuna kıyasla 18 °C, 23 °C ve 28 °C sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanan balıkların solungacında GSH düzeyleri

sırasıyla $8,29 \pm 1,07$, $13,09 \pm 1,58$ ve $7,09 \pm 1,24$ $\mu\text{mol/g}$ protein değerlerine indi. Bu azalmalar her üç grupta da istatistiksel olarak önemli bulundu ve sırasıyla % 47,19, % 16,62 ve % 54,84 olarak gerçekleşti ($p < 0,05$, Tablo 3.2 ve Şekil 3.2).

Yalnız sıcaklığın azaldığı (18 °C) ve arttığı (28 °C) gruplarda karaciğer ve solungaç GSH düzeyleri kontrol grubu (23 °C)' na göre azaldı. Bu azalmalar sıcaklıktaki değişimle eşzamanlı olarak deltamethrin uygulanan gruplar (18 °C + DM ve 28 °C + DM)' da daha fazla oldu. Sıcaklığın 23 °C' de kaldığı ve deltamethrin uygulanan grup (23 °C + DM)' ta da bu azalma gözlemlendi.

Tablo 3.2. Kontrol ve deneme grubu balıklarının dokularındaki GSH düzeyi (Ortalama $\pm$ standart hata, $\mu\text{mol/g}$ protein)

Gruplar	Karaciğer	Solungaç
18 °C	$30,75 \pm 6,43^e$	$12,53 \pm 1,99^d$
23 °C (Kontrol)	$39,23 \pm 5,90^f$	$15,70 \pm 2,62^e$
28 °C	$23,86 \pm 5,07^d$	$9,73 \pm 1,47^c$
18 °C + DM	$11,13 \pm 3,03^b$	$8,29 \pm 1,07^b$
23 °C + DM	$16,30 \pm 4,91^c$	$13,09 \pm 1,58^d$
28 °C + DM	$9,95 \pm 2,68^a$	$7,09 \pm 1,24^a$

18 °C: 18 °C sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanmayan balıklar,

23 °C: 23 °C sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanmayan balıklar (Kontrol grubu),

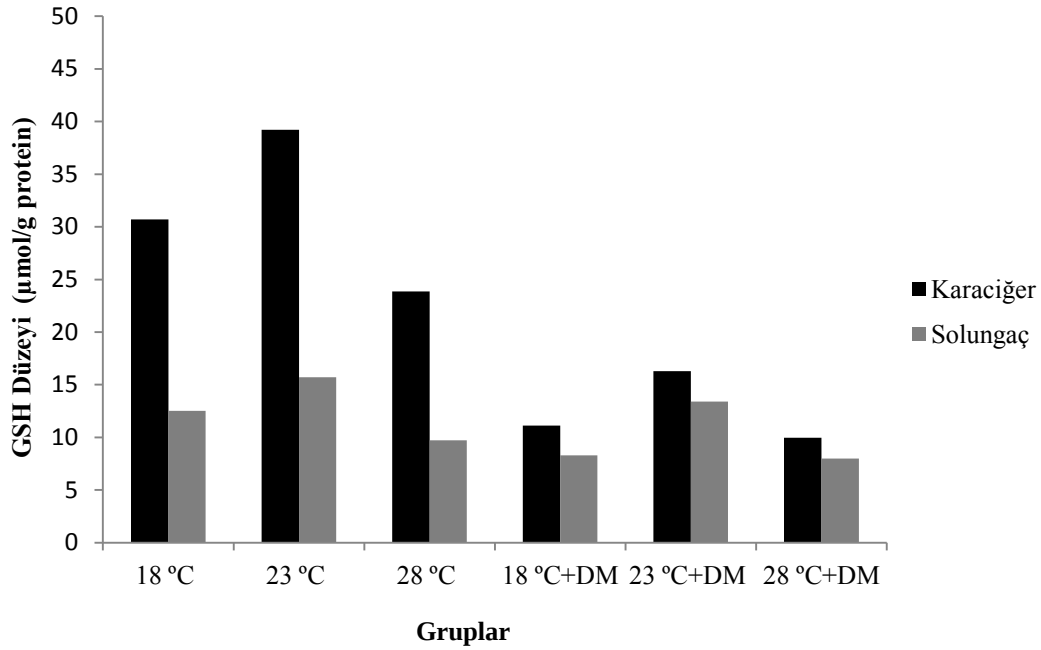
28 °C: 28 °C sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanmayan balıklar,

18 °C + DM: 18 °C sıcaklıkta tutulan ve 0.036 $\mu\text{g/L}$ konsantrasyonunda deltamethrin uygulanan balıklar,

23 °C + DM: 23 °C sıcaklıkta tutulan ve 0.036 $\mu\text{g/L}$ konsantrasyonunda deltamethrin uygulanan balıklar,

28 °C + DM: 28 °C sıcaklıkta tutulan ve 0.036 $\mu\text{g/L}$ konsantrasyonunda deltamethrin uygulanan balıklar.

^{a,b,c,d,e,f} Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 3.2. Kontrol ve deneme grubu balıklarının dokularındaki GSH düzeyi (Ortalama $\pm$ standart sapma, $\mu\text{mol/g protein}$)

3.3. GST Aktivitelerindeki Değişimler

Kontrol ve deneme grubu balıklarının karaciğer ve solungaç GST aktivitelerinde aşağıdaki değişimler tespit edildi.

Kontrol grubu (23 °C) balıklarının karaciğerinde GST aktivitesi $139,04 \pm 19,09$ $\mu\text{mol/dakika/mg protein}$ olarak belirlendi. 18 °C ve 28 °C sıcaklıkta tutulan fakat deltamethrin uygulanmayan balıklarda GST aktiviteleri sırasıyla $108,71 \pm 21,75$ ve $99,01 \pm 17,51$ $\mu\text{mol/dakika/mg protein}$ değerlerine indi. Bu azalmalar sırasıyla % 21,81 ve % 28,79 şeklinde gerçekleşti ve istatistiksel olarak önemli bulundu. Kontrol grubuna kıyasla 18 °C, 23 °C ve 28 °C sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanan balıkların karaciğerinde GST aktiviteleri sırasıyla $94,74 \pm 22,74$, $117,22 \pm 19,39$ ve $81,26 \pm 11,81$ $\mu\text{mol/dakika/mg protein}$ değerlerine indi. Bu azalmalar her üç grupta da istatistiksel olarak önemli bulundu ve sırasıyla % 31,86, % 15,69 ve % 41,55 olarak gerçekleşti ($p < 0,05$, Tablo 4.3. ve Şekil 4.3.).

Kontrol grubu (23 °C) balıklarının solungacında GST aktivitesi $114,72 \pm 9,53$ $\mu\text{mol/dakika/mg protein}$ olarak belirlendi. 18 °C ve 28 °C sıcaklıkta tutulan fakat deltamethrin uygulanmayan balıklarda GST aktiviteleri sırasıyla $102,57 \pm 8,09$ ve $98,21 \pm 10,81$ $\mu\text{mol/dakika/mg protein}$ değerlerine indi. Bu azalmalar sırasıyla % 10,59 ve % 14,41 şeklinde gerçekleşti ve istatistiksel olarak önemli bulundu. Kontrol grubuna kıyasla 18 °C,

23 °C ve 28 °C sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanan balıkların solungacında GST aktiviteleri sırasıyla $89,03 \pm 12,65$, $99,09 \pm 10,07$ ve $85,88 \pm 10,10$ $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein değerlerine indi. Bu azalmalar her üç grupta da istatistiksel olarak önemli bulundu ve sırasıyla % 18,47, % 13,62 ve % 25,13 olarak gerçekleşti ($p < 0,05$, Tablo 3.3 ve Şekil 3.3).

Yalnız sıcaklığın azaldığı (18 °C) ve arttığı (28 °C) gruplarda karaciğer ve solungaç GST aktiviteleri kontrol grubu (23 °C)' na göre azaldı. Bu azalmalar sıcaklıktaki değişimle eşzamanlı olarak deltamethrin uygulanan gruplar (18 °C + DM ve 28 °C + DM)' da daha fazla oldu. Sıcaklığın 23 °C' de kaldığı ve deltamethrin uygulanan grup (23 °C + DM)' ta da bu azalma gözlemlendi.

Tablo 3.3. Kontrol ve deneme grubu balıklarının dokularındaki GST aktivitesi (Ortalama $\pm$ standart hata, $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein)

Gruplar	Karaciğer	Solungaç
18 °C	$108,71 \pm 21,75^c$	$102,57 \pm 8,09^b$
23 °C (Kontrol)	$139,04 \pm 19,09^e$	$114,72 \pm 9,53^c$
28 °C	$99,01 \pm 17,51^b$	$98,21 \pm 10,81^b$
18 °C + DM	$94,74 \pm 22,74^b$	$89,03 \pm 12,65^a$
23 °C + DM	$117,22 \pm 19,39^d$	$99,09 \pm 10,07^b$
28 °C + DM	$81,26 \pm 11,81^a$	$85,88 \pm 10,10^a$

18 °C: 18 °C sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanmayan balıklar,

23 °C: 23 °C sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanmayan balıklar (Kontrol grubu),

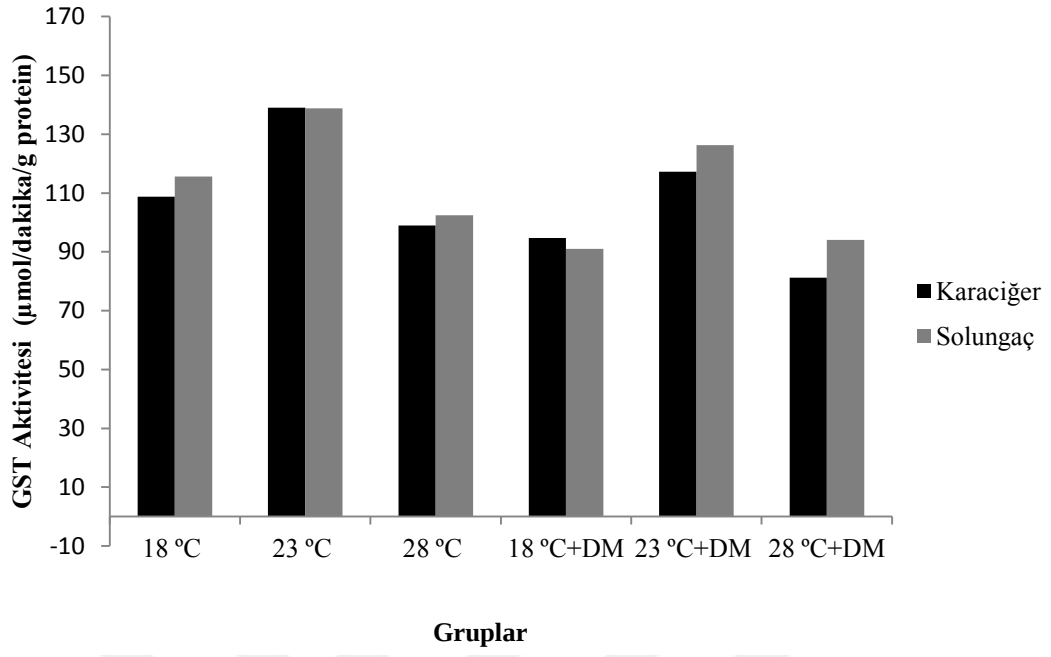
28 °C: 28 °C sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanmayan balıklar,

18 °C + DM: 18 °C sıcaklıkta tutulan ve 0.036 $\mu\text{g/L}$ konsantrasyonunda deltamethrin uygulanan balıklar,

23 °C + DM: 23 °C sıcaklıkta tutulan ve 0.036 $\mu\text{g/L}$ konsantrasyonunda deltamethrin uygulanan balıklar,

28 °C + DM: 28 °C sıcaklıkta tutulan ve 0.036 $\mu\text{g/L}$ konsantrasyonunda deltamethrin uygulanan balıklar.

^{a,b,c,d,e} Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 3.3. Kontrol ve deneme grubu balıklarının dokularındaki GST aktivitesi (Ortalama $\pm$ standart hata, $\mu\text{mol/dakika/mg}$ protein)

4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Oksijenden tek elektron indirgenmesi sonucu oluşan serbest radikaller değişik birçok reaksiyonla hücre ve dokularda oluşur. Bu radikaller proteinler, lipitler, karbohidratlar ve nükleik asitleri yıkıma uğratabilir. Ayrıca DNA' ya zarar verirler, enzimlerin aktivasyonunu bozarlar ve membran geçirgenliğini olumsuz etkilerler. Poliansature yağ asitlerinin oksidatif yıkımı olan lipid peroksidasyon serbest radikallerin uyardığı hücre yıkımında önemli bir mekanizmadır. Birçok hastalıkta doku yıkımı serbest radikaller ve lipid peroksidasyon sonucu oluşur. Organizmada serbest radikal reaksiyonları birçok antioksidan sistemi ile kontrol edilir. Antioksidanlar serbest radikal oluşumunu önleyen, temizleyen veya zincir kıran yapılar olarak işlev görürler (Bragadottir, 2001; Benzer, 2001; Fontagné vd., 2006).

Diğer yüksek omurgalı canlılarda olduğu gibi balıklarda da lipid peroksidasyon veya MDA düzeyi hücresel bileşenlerde meydana gelen oksidatif zararın en önemli göstergesidir (Morales vd., 2004). Bu araştırmada da organ ve dokularda meydana gelen oksidatif stresin belirlenmesi için MDA düzeyindeki değişimler incelenmiştir.

Mişe Yonar vd. (2013) kontrol (24 °C) grubuna göre 20 °C ve 28 °C' lik sıcaklıkların uygulandığı pullu sazanın karaciğer ve böbrek dokusundaki MDA düzeyinin önemli düzeyde arttığını ifade etmişlerdir. Vinagre vd. (2012), 16 °C' ye adapte ettikleri deniz levrekleri (*Dicentrarchus labrax*)' nde su sıcaklığının 18, 24 ve 28 °C' ye yükseltilmesiyle kas MDA düzeyinin yükseldiğini bildirmişlerdir. Roche ve Bogé (1996) aynı balık türünde oksidatif stres üzerine sıcaklığın etkisini araştırmışlardır. Sonuç olarak uygulamadan 12 saat sonra lipit peroksidasyon ve katalaz aktivitesinin termal stresle arttığını bulmuşlardır. Hwang ve Lin (2002) tarafından yapılan bir çalışmada da 25 °C ve 35 °C' de 10 hafta için ayrı ayrı kültür edilen sazanlarda hepatopankreas ve kas dokusundaki TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) düzeyinin 35 °C' de tutulan balıklarda 25 °C' de tutulanlara kıyasla arttığı, bu balıklara vitamin C uygulamasıyla bu olumsuzluğun giderildiği belirlenmiştir. Diğer taraftan düşük sıcaklığın balıklarda oluşturduğu oksidatif stres de araştırılmıştır. Örneğin 11 °C' den 8 °C' ye sıcaklığın düşürülmesiyle strese sokulmuş salmonların karaciğer, böbrek ve beyin dokularındaki lipid peroksidasyon düzeyleri araştırılmış, 48. saatten itibaren MDA düzeyindeki artış en yüksek böbrekte en az karaciğerde belirlenmiştir. Bunun nedeni de karaciğerde vitamin E düzeyinin yüksek, böbrekte ise düşük olmasına bağlanmıştır (Welker ve Congleton, 2004).

Bu çalışmada da kontrol grubu (23 °C)' na kıyasla düşük (18 °C) ve yüksek (28 °C) sıcaklıkta tutulan fakat deltamethrin uygulanmayan balıkların karaciğer ve solungaç MDA düzeyleri istatistiksel olarak önemli düzeyde artmıştır. Bu sonuç yukarıdaki araştırmacıların bulgularıyla paralel bulunmuştur.

Diğer taraftan düşük (18 °C) ve yüksek (28 °C) sıcaklıkla birlikte pestisit uygulaması oksidatif stresin şiddetini daha da arttırmıştır. Kaur vd. (2011) tarafından yapılan bir çalışma da 3 saat için sıcaklığın 32 °C' ye yükseltilmesiyle strese sokulmuş ve daha sonra 0.75 ppb konsantrasyonunda 48 saat süreyle deltamethrin uygulanmış *Channa punctata* türü balıklarda karaciğer, böbrek ve solungaç lipid peroksidasyon düzeyinin arttığı belirlenmiştir.

Pestisitler serbest radikal oluşumuna yol açarak veya serbest radikalleri inhibe eden antioksidan enzimleri etkileyerek oksidatif strese neden olmaktadır. Lipid peroksidasyon pestisitlerin neden olduğu toksik etkilerden biridir (Özcan Oruç ve Usta 2007). Farklı araştırmacılar tarafından yürütülen çalışmalarda deltamethrinin balıklarda oksidatif strese yol açtığı ifade edilmiştir. Örneğin; Yonar ve Sakin (2011) 24 °C su sıcaklığında yürüttükleri çalışmalarında 0.018 µg/L ve 0.036 µg/L konsantrasyonlarındaki deltamethrinin sazanların kan, karaciğer, böbrek ve solungaçlarında MDA düzeyini arttırarak oksidatif strese sebep olduğunu bulmuşlardır. Benzer bir sonuç Sayeed vd. (2003) tarafından bulunmuş, 25 ± 2 °C' de 48 saat için 0.75 µg/L konsantrasyonundaki deltamethrin uygulanan *Channa punctatus* türü balıkların karaciğer, böbrek ve solungaçlarında lipid peroksidasyon düzeyinin arttığı belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada da kontrol grubuyla aynı sıcaklıkta (23 °C) tutulan ve deltamethrin uygulanan balıklarda MDA düzeyinin önemli düzeyde arttığı dolayısıyla balıklarda oksidatif strese neden olduğu belirlenmiştir.

Balıkların antioksidan savunma mekanizmaları; konakçı dokusunda hasara neden olan etkenleri ortadan kaldıran veya yayılmasını sınırlandıran, enfeksiyonun meydana gelmesini engelleyen ya da enfeksiyona karşı vücudun cevap vermesini sağlayan faktörlerin birçoğunu içine almaktadır. (McDowell 1989; Blazer 1992). Yüksek omurgalılarıdaki gibi balıklarda da antioksidan sistem non-enzimatik ve enzimatik olarak sınıflandırılırlar. Balıklarda en önemli antioksidan enzimler, aktiviteleri ve diğer antioksidanlarla ilişkileri hakkındaki bilgilerin sınırlı olduğu H₂O₂'yi temizleyen katalaz, O₂^{••} yi yok eden süperoksit dismutaz, H₂O₂ ve lipid hidroperoksitleri temizleyen glutatyon

peroksidaz ile glutatyona bağılı diğer enzim ve antioksidanlardır (Belló vd., 2000; Mourente vd., 2002; Puangkaew vd., 2005).

GSH, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasardan koruyan, enzimatik olmayan, tripeptit karakterinde, endojen, çok önemli bir antioksidandır. GSH protein yapısındaki sülfhidril gruplarını indirgenmiş halde tutarak çoğu protein ve enzimin inaktive olmasını engeller (Hayes and McLellan 1999). Bu çalışmada düşük (18 °C) ve yüksek (28 °C) sıcaklıklarda tutulan fakat deltamethrin uygulanmayan balıkların karaciğer ve solungacındaki GSH düzeyi, kontrol grubu (23 °C)'na göre düşük bulunmuştur. Hwang ve Lin (2002) tarafından yapılan bir çalışmada benzer sonuçlar elde edilmiş, 25 °C' de tutulanlara kıyasla 35 °C' de tutulan sazanlarda hepatopankreas ve kas dokusundaki GSH düzeyinin azaldığı belirlenmiştir. Yine kısa süreli yüksek sıcaklık uygulanan *Heteropneustes fossilis* türü balıklarda solungaç GSH-Px aktivitesi ve GSH düzeyi azalmıştır (Parihar vd., 1997).

Ayrıca GSH düzeyinin, düşük ve yüksek sıcaklıkla birlikte deltamethrin uygulanan gruplarda daha fazla azaldığı görülmüş, düşük (18 °C) ve yüksek (28 °C) sıcaklıklarda tutulan ve deltamethrin uygulanan balıkların karaciğer ve solungacındaki GSH düzeyi kontrol grubu (23 °C)'na göre düşük bulunmuştur. Bu sonucun aksine ısı stresine sokulan ve arkasından deltamethrin uygulanan ve yine deltametrin uygulandıktan sonra ısı stresine sokulan balıkların farklı dokularında, non-enzimatik antioksidan (total tiyol ve protein tiyol) düzeylerinin yalnız ısı stresine sokulan veya yalnız deltametrin uygulananlara kıyasla daha fazla arttığı belirlenmiştir (Kaur vd., 2011).

Zebra balığı (*Danio rerio*)'na 25 ± 2 °C' de 16 gün için 0,016, 0,025 ve 0,043 µg/L (sırasıyla 96 saat için LC₅, LC₁₀ ve LC₂₀ değeri) konsantrasyonlarında deltamethrin uygulanan çalışmada beyin ve kas GSH düzeyi kontrol grubuna göre azalmıştır (Sharma ve Ansari, 2013). Benzer bir sonuç 25 ± 2 °C' deki optimal su sıcaklığında 5.19 µg/L konsantrasyonunda deltamethrin uygulanmış Afrika yayın balığı (*Clarias gariepinus*)'nda belirlenmiş, karaciğer, böbrek ve solungaçtaki GSH seviyesinin azaldığı gözlemlenmiştir (Hamed, 2016). Benzer sonuçlar bu çalışmada da elde edilmiş kontrol grubu (23 °C)'yla aynı sıcaklıkta tutulmuş ve deltamethrin uygulanmış gruplarda karaciğer ve solungaç GSH düzeyi azalmıştır.

GST, GSH ile birlikte elektrofilik gruplar taşıyan bileşikler arasındaki konjugasyonu katalizleyen, birçok farklı ksenobiyotik ve endojen bileşiklerin detoksifikasyonu ve biyotransformasyonunda rol alan, çok fonksiyonlu faz II enzim

ailesinin bir üyesidir (Hamed vd., 2003). Lou vd. (2011), *Paralichthys olivaceus* türü balıkların karaciğerindeki süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktivitesinin kontrol grubuna (25 °C) göre 28, 30 ve 32°C' deki deneme gruplarında uygulamanın 13. ve 19. günlerinde düştüğünü belirlemişlerdir. Kaur vd. (2005), kontrol grubu (20 °C)' na göre 3 saat için sıcaklığın 12 °C arttırılmasıyla 32 °C' de strese sokulmuş *Channa punctata* türü balıklarda GST enzim aktivitesinin karaciğer, böbrek ve solungaç dokusunda azaldığını ifade etmişlerdir. Benzer bir sonuç bu çalışmada da elde edilmiş, düşük (18 °C) ve yüksek (28 °C) sıcaklıklarda tutulan fakat deltamethrin uygulanmayan balıkların karaciğer ve solungacındaki GST aktivitesi kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur.

Düşük (18 °C) ve yüksek (28 °C) sıcaklıklarda tutulan ve deltamethrin uygulanan balıkların karaciğer ve solungacındaki GST aktivitesinin kontrol grubu (18 °C)' na göre azaldığının belirlendiği bu araştırma sonuçlarına göre, düşük (18 °C) ve yüksek (28 °C) sıcaklıkla birlikte deltamethrin uygulaması deltamethrin uygulanmayanlara göre GST aktivitesini daha da düşürmüştür. Kaur vd. (2011), kontrol grubu (20 °C)' na göre 32 °C' de 3 saat için strese sokulmuş ve daha sonra 0.75 ppb konsantrasyonunda 48 saat süreyle deltamethrin uygulanmış *Channa punctata* türü balıklarda GST enzim aktivitesinin karaciğer ve solungaç dokusunda azaldığını, böbrekte ise arttığını ifade etmişlerdir. Karaciğer ve solungaç dokusunda belirlenen azalma bu çalışma sonuçlarıyla paralellik göstermektedir.

Önemli bir antioksidan enzim olan GST, pestisitlerin toksik etkilerine karşı farklı reaksiyonlar gösterebilmektedir. Sayeed vd. (2003) 25 ± 2 °C' de 48 saat için 0.75 µg/L konsantrasyonundaki deltamethrin uygulanan *Channa punctatus* türü balıkların karaciğer, böbrek ve solungaçlarında GST aktivitesini araştırmıştır. Sonuçta karaciğer ve böbrek dokusundaki GST aktivitesini kontrol grubundan yüksek bulunurken solungaç dokusunda ise düşük bulunmuştur. Kontrol grubu (23 °C)' yla aynı sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanan gruplarda karaciğer ve solungaç dokusunun her ikisinde de GST aktivitesi azaldığı bu çalışmada, karaciğer dokusunda belirlenen azalma yukarıdaki araştırmacının bulgularıyla tezat oluştururken, solungaç dokusundaki azalma paralel bulunmuştur.

Bu çalışma sonuçlarına göre düşük (18 °C) ve yüksek (28 °C) sıcaklık uygulamasıyla MDA ve GSH düzeyi ve GST aktivitesinde belirlenen değişiklikler balıkların özellikle optimum aralıklar dışındaki çevresel sıcaklığa oldukça duyarlı olduğunu göstermiştir. Optimum sıcaklık dışındaki değerlerin balıklarda oksidatif stresi arttırması sıcaklığın hücresel özellikle de mitokondriyal fonksiyonları etkilediğini

göstermektedir (Vinagre vd., 2012; Kaur vd., 2005). Diğer taraftan (18 °C) ve yüksek (28 °C) sıcaklık uygulaması GSH düzeyi ve GST aktivitesini düşürmüştür. Bunun nedeni sıcaklık farklılıklarının neden olduğu antioksidanların denaturasyonu veya protein sentezindeki bozulmalar olabilir (Heise vd., 2006; An ve Choi, 2010)

Deltamethrine karşı balıklarda oksidatif hasar ve antioksidan mekanizmalarının boyutlarıyla ilgili çalışmalar mevcut olmasına rağmen, pullu sazanda çevresel veya farklı stres faktörleriyle birlikte deltamethrinin etkilerini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Balıkların fizyolojisi, yaşadıkları çevrenin sıcaklığıyla kuvvetli bir şekilde ilişkili olduğundan, kimyasallara karşı tepkileri de sıcaklığın etkisindedir. Mevsimsel sıcaklık değişiklikleri balıkların fizyolojisi üzerine derin etkilere sahip olduğu için bu da kimyasalların toksisitesinin değişmesine neden olur (Vinagre vd., 2012). Sekine vd. (1996) su sıcaklığının artması veya azalmasının kirleticilerin toksisitesini etkileyebileceğini ifade etmiştir. Bu nedenle, piretroidlerin sudaki varlığı ve su sıcaklığı balıklarda toksik etkileri modüle edebilir. Bu çalışma da en önemli çevresel faktörlerden biri olan sıcaklığın deltametrinin toksisitesi üzerinde belirgin bir etkisinin olduğunu göstermiştir.

Yapılan bu çalışma sonuçlarına göre kontrol grubu (23 °C)' yla aynı sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanan balıklarda karaciğer ve solungaç dokusunun her ikisinde de GSH düzeyi ile GST aktivitesinin azaldığı belirlenmiştir. Her iki dokuda da antioksidan kapasitenin deltamethrin uygulamasıyla oluşan radikallerle aşıldığı ve radikalleri temizlemede antioksidan mekanizmanın başarısız olduğu görülmüştür. Bu sonuç MDA düzeyindeki artışla da desteklenmektedir. Bunun nedeninin antioksidanların sentezi üzerine deltamethrinin inhibisyonu olabileceği düşünülmektedir.

5. ÖNERİLER

Sıcaklığın azalması ve artması karaciğer ve solungaç dokusunda MDA düzeyini arttırarak oksidatif strese yol açmıştır. Sıcaklıktaki değişimle eşzamanlı olarak deltamethrin uygulanan gruplarda MDA düzeyi, buna bağlı olarak da oksidatif stresin şiddeti daha fazla artmıştır. Diğer taraftan sıcaklığın kontrol grubuyla aynı kaldığı ve deltamethrin uygulanan grupta da oksidatif stresin olduğu gözlemlenmiştir. Sıcaklığın azaldığı ve arttığı grupların karaciğer ve solungacında GSH düzeyi ve GST aktivitesi kontrol grubuna göre azalmış, bu azalmalar sıcaklıktaki değişimle eşzamanlı olarak deltamethrin uygulanan gruplarda daha fazla gerçekleşmiştir. Kontrol grubuyla aynı sıcaklıkta kalan ve deltamethrin uygulanan grupta da bu azalmalar gözlemlenmiştir.

Bu sonuçlar sıcaklık farklılıklarının balıkların fizyolojisi üzerine güçlü etkilerinin olduğunu tekrar kanıtlamıştır. Ayrıca;

Balıkların özellikle optimum aralıklar dışındaki çevresel sıcaklığa oldukça duyarlı olduğu,

Antioksidanların etkilerinin su sıcaklığıyla değiştiği,

Sıcaklığın deltametrinin toksisitesi üzerinde belirgin bir etkisinin olduğu sonucuna varılabilir.

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

KAYNAKLAR

- Abdollahi, M., Mostafalou, S., Pournourmohammadi, S. and Shadnia, S.,** 2004. Oxidative stress and cholinesterase inhibition in saliva and plasma of rats following subchronic exposure to malathion, *Comparative Biochemistry and Physiology C*, **137**, 29-34.
- Akkuş, İ.,** 1999. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza Yayınları, Konya.
- Alpbaz, A.,** 2005. Su Ürünleri Yetiştiriciliği (II. Baskı), Alp Yayınları, Bornova/İzmir.
- An, M.I. and Choi, C.Y.,** 2010. Activity of antioxidant enzymes and physiological responses in ark shell, *Scapharca broughtonii*, exposed to thermal and osmotic stress: Effects on hemolymph and biochemical parameters, *Comparative Biochemistry and Physiology B*, **155 (1)**, 34-42.
- Anderson, M.E.,** 1998. Glutathione: an overview of biosynthesis and modulation, *Chemico-Biological Interactions*, **111-112**, 1-14.
- Arda, M., Seçer, S. ve Sarıeyyüpoğlu, M.,** 2005. Balık Hastalıkları, Medisan Yayın Serisi: 61, 230s, Ankara.
- Armstrong, R. N.,** 1997. Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases, *Chemical Research in Toxicology*, **10**, 2-18.
- Atamanalp, M. ve Yanık, T.,** 2001. Pestisitlerin Cyprinidae'lere toksik etkileri, *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, **18**, 555-563.
- Balık, E.,** 1986. Doku İncinmesi ve Yangısal Olaylarda Oksijen Serbest Radikallerinin Önemi, *Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **25 (2)**, 809-815.
- Beckman, J. and Tsai, J.H.,** 1994. Reactions and Diffusion of Nitric Oxide and Peroxynitrite, *The Biochemistry*, **16 (5)**, 8-10.
- Belló, A.R.R., Fortes, E., Belló-Klein, A., Belló, A.A., Llesuy, S.F., Robaldo, R.B. and Bianchini, A.,** 2000. Lipid Peroksidasyon induced by *Clinostomum detrunctum* in muscle of the freshwater fish *Rhamdia quelen*, *Diseases of Aquatic Organisms*, **42**, 233-236.
- Benzer, F.,** 2001. Fasciola Hepatica ile Enfekte Koyunların Kan ve Karaciğer Dokularında Arginaz, Nitrik Oksit, Bazı Antioksidant Enzimler ve Lipid Peroksidasyon Düzeyleri ile Karaciğer Arginaz Enziminin Biyokimyasal Özellikleri, *Doktora Tezi*, Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ.
- Beutler, E., Deron, O. and Kelly, B.M.,** 1963. Improved method for the determination of blood glutathione, *Journal Laboratory and Clinical Medicine*, **61 (5)**, 882-888.

- Blazer, V.S.**, 1992. Nutrition and disease resistance in fish. *Annal, Review Fish Diseases*, **2**, 309–323.
- Bragadottir, M.**, 2001. Endogenous antioxidants in fish A literature review submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in food science, Department of Food Science, University of Iceland.
- Cheeseman, K.H. and Slater, T.F.**, 1993. An Indroduction to Free Radical Biochemistry, *British Medical Bulletin*, **49**, 481-493.
- Cnubben, N.H.P., Rietjens, I.M.C.M., Wortelboer, H., van Zanden, J. and van Bladeren, P.J.**, 2001. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **10**, 141-152.
- Çağltay, F.**, 2007. İçsu Balıkları ve Yetiştiriciliği. Nobel Yayın Dağıtım, Yayın No: 1217, Ankara.
- Çelikkale, M.S.**, 1994. İçsu Balıkları ve Yetiştiriciliği (Cilt II). Karadeniz Teknik Üniversitesi Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi Yayınları, Trabzon.
- Dautremepuits, C., Betoulle, S. and Vernet, G.**, 2003. Stimulation of antioxidant enzymes levels in carp (*Cyprinus carpio* L.) infected by *Ptychobothrium* sp. (Cestoda), *Fish and Shellfish Immunology*, **15** (5), 467-471.
- Delibaş, N. ve Özçankaya, R.**, 1995. Serbest Radikaller, *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **2**, 11-17.
- Dikel, S.**, 2009. Su Sıcaklığının Balık Yetiştiriciliğine Etkisi, *Alınteri*, **16** (B), 42-49.
- Dikici, İ.**, 1999. Akut viral hepatitlerle interferon tedavisi görmüş kronik viral hepatitlerde oksidatif stresin araştırılması, *Uzmanlık Tezi*, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Konya.
- Eaton, D.L. and Bammler, T.K.**, 1999. Concise review of the glutathione S-transferases and their significance to toxicology, *Toxicol Sciences*, **49**, 156-164.
- Egemen, Ö. ve Canyurt, M. A.**, 1996. Pestisitlerin akuatik ortamdaki etkileri. Hayvancılık 96 Sempozyumu, İzmir.
- Elman, G.L.**, 1959. Tissue sulphydryl groups, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **82**, 70-77.
- Fontagné, S., Bazin, D., Brèque, J., Vachot, C., Bernarde, C., Rouault, T. and Bergot, P.**, 2006. Effects of dietary oxidized lipid and vitamin A on the early development and antioxidant status of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) larvae, *Aquaculture*, **257**, 400-411.

- Gabryelak, T., Piatrowska, M., Leyko, W. and Peres, G.,** 1983. Seasonal variation in the activities of peroxide metabolism enzymes in erythrocytes of freshwater fish species, *Comparative Biochemistry and Physiology C*, **75**, 383-385.
- Gray, A.J.,** 1985. Piretiroid structure-toxicity relationships in mammals, *Neurotoxicology*, **6**, 127-37.
- Güler, Ç. ve Çobanoğlu, Z.,** 1997. Çevre Sağlığı ve Boyutlarıyla Habitata ve Kent Çevresi, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi, **42**.
- Habig, W.H., Pabst, M.J. and Jakoby, W.B.,** 1974. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation, *The Journal of Biological Chemistry*, **249 (71)**, 30-7139.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C.,** 1999. Free Radicals in Biology and Medicine, Oxford University Press, London.
- Hamed, R.R., Farid, N.M., Elowa, S.H.E. and Abdalla, A.M.,** 2003. Glutathione related enzyme levels of freshwater fish as bioindicators of pollution, *The Environmentalist*, **23**, 313-322.
- Hamed, H.S.,** 2016. Ameliorative Effects of *Spirulina platensis* on Deltamethrin-Induced Biochemical Alterations and Oxidative Stress in the African Catfish; *Clarias gariepinus*, *Open Journal of Marine Science*, **6**, 1-10.
- Hayes, J.D. and McLellan, L.I.** 1999. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a coordinately regulated defence against oxidative stress, *Free Radical Research*, **31**, 273-300.
- Heise, K., Puntarulo, S., Nikinmaa, M., Abele, D. and Pörtner, H.O.,** 2006. Oxidative stress during stressful heat exposure and recovery in the North Sea eelpout *Zoarces viviparus* L., *Journal of Experimental Biology*, **209**, 353-363.
- Hwang, D.F. and Lin, T.K.,** 2002. Effect of temperature on dietary vitamin C requirement and lipid in common carp, *Comparative Biochemistry and Physiology B*, **131 (1)**, 1-7.
- Hu, H.,** 2000. Exposure to metals, *Occupational and Environmental Medicine*, **27**, 983-996.
- Kalaycı, Ş.,** 2010. SPSS Uygulamalı Çok Değişkenli İstatistik Teknikleri, Asil Yayınları, Ankara.
- Kalender, S., Kalender, Y., Ögütçü, A., Uzunhisarcıklı, M., Durak, D. and Açıkgöz, F.,** 2002. Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E, *Toxicology*, **202**, 227-235.

- Kan, Y.,** 2011. Tatlısu balığı *Oreochromis niloticus*'da karaciğer, solungaç histolojisi ve yağ asidi kompozisyonu üzerine piyetroit pestisit deltamethrinin etkileri ve e vitamininin koruyucu etkisi, *Yüksek Lisans Tezi*, Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Elazığ.
- Karaismailoğlu, M.C.,** 2013. Deltametrin ve quizlofob-p-etil pestisitlerin *Helianthus annuus* L. (Ayçiçeği) kök ucu hücreleri mutajenik etkilerinin araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi*, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloj Anabilim Dalı, Trabzon.
- Karasu Benli, A.Ç. ve Gülen, Z.,** 2009. Fenitrothion'un etkisinde bırakılan tilapia'da (*Oreochromis niloticus* L.) sekonder stres indikatörleri hematokrit ve plazma glukoz seviyesinin değişimi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, **19**, 19-22.
- Kaur, M., Atif, F., Ali, M., Rehman, H. and Raisuddin, S.,** 2005. Heat stress-induced alterations of antioxidants in the freshwater fish *Channa punctata* Bloch, *J. Fish Biol.* **67**, 1653–1665.
- Kaur, M., Atif, F., Rizwan, A.A., Ahmad, F. and Raisuddin, S.,** 2011. The interactive effect of elevated temperature on deltamethrin-induced biochemical stress responses in *Channa punctata* Bloch, *Chemico-Biological Interactions*, **193**, 216-224.
- Kaya, E.,** 2005. Klorprifos ve deltamethrin'in kan ve beyin lipid peroksidasyon ve antioksidan enzim aktivitelerine etkileri, *Yüksek Lisans Tezi*, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Isparta.
- Kocaçalışkan, İ. ve Bingöl, N.A.,** 2008. Biyoistatistik, Nobel Yayınları, Yayın No: 1305, Ankara.
- Knight, J.A.,** 1995, Diseases related to oxygen-derived free radical, *Annals of Clinical and Laboratory Science*, **25**, 111-121.
- Köprücü, K. and Aydın, R.,** 2004. The toxic effects of pyrethroid deltamethrin on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **80**, 47–53.
- Köse, K. ve Doğan, P.,** 1992, Lipit peroksidasyonu, *Erciyes Tıp Dergisi*, **1**, 340-350.
- Leblanc, G.A. and Dauterman, W.C.,** 2000. Conjugation and Elimination of Toxicants, in *Introduction to Biochemical Toxicology*, pp. 115-135, Eds. Hodgson, E. & Smart, R.C., Wiley and Sons Inc., USA.
- Lloyd, R.,** 1992. Pollution and Freshwater Fish. A Buckland Foundation Book, Fishing News Books, Cornwall.

- Lowry, O.H., Rosenberough, N.J., Farr, A.L. and Randal, R.J., 1951.** Protein measurement with folinphenol reagent, *Journal of Biochemistry*, 193, 265-275.
- Lou, B., Xu, D., Xu, H., Zhan, W., Mao, G. and Shi, H., 2011.** Effect of high water temperature on growth, survival and antioxidant enzyme activities in the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*, *African Journal of Agricultural Research*, 6(12), 2875-2882.
- Martinez, R.M., Morales, A.E. and Sanz, A., 2005.** Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors, *Fish Biology and Fisheries*, 15, 75-88.
- Mc Cord, J.M., 1983.** The Superoxide free radical: Its biochemistry and pathophysiology, *Surgey*, 94 (3), 412-414.
- McDowell, L.R., 1989.** Vitamins in animal nutrition-comparative aspects to human nutrition: Vitamin E. In McDowell, L.R. Academic Press, London. pp 93–131.
- McLean, J.A., Karadas, F., Surai, P.F., McDevitt, R.M. and Speake, B.K., 2005.** Lipidsoluble and water-soluble antioxidant activities of the avian intestinal mucosa at different sites along the intestinal tract, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 141, 366-372.
- Mişe Yonar, S., Yonar, M.E., Sağlam, N. and S. Silici, S., 2013.** Farklı su sıcaklıklarında tutulmuş pullu sazan (*Cyprinus carpio carpio* linnaeus, 1758)'nın karaciğer ve böbreğindeki bazı antioksidan parametreler üzerine propolisin etkisi, *Menba, Kastomunu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 1, 11-16.
- Morales, A.E., Pérez-Jiménez, A., Hidalgo, M.C., Abellán, E. and Gabriel C.G., 2004.** Oxidative stres and antioxidant defenses after prolonged starvation in *Dentex dentex* liver, *Comporative Biochemistry and Physiology C*, 139 (1-3), 153-161.
- Mourente, G., Diaz-Salvago, E., Bell, J.G. and Tocher, D.R., 2002,** Increased activities of hepatic antioxidant defence enzymes in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fed dietary oxidised oil: attenuation by dietary vitamin E, *Aquaculture*, 214, 343-361.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, R.A., Rodwell, V.W., 1996.** Harper's biochemistry, McGraw-Hill Medical, U.S.A.
- Narahashi, T., 1985.** Nerve membrane ionic channels as the primary target of Piretiroids, *Neurotoxicology*, 6 (2), 3-22.
- Özcan Oruç, E. and Üner, N., 1999.** Effects of 2,4-Diamin on some parameters of protein and carbohydrate metabolisms in the serum, muscle and liver of *Cyprinus carpio*, *Environmental Pollution*, 105, 267-272.

- Özcan Oruç, E. and Usta, D.,** 2007. Evaluation of oxidative stres responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **23 (1)**, 48-55.
- Parihar, M.S. Javeri, T., Hemnani, T., Dubey, A.K., and Prakash, P.,** 1997. Responses of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and reduced glutathione antioxidant defenses in gills of the fresh water catfish (*Heteropneustes fossilis*) to short-term elevated temperature, *Journal of Thermal Biology*, **22**, 151–156.
- Pena-Llopis, S., Pena, J.B., Sancho, E., Fernandez-Vega, C. and Ferrando, M.D.,** 2001. Glutathione-dependent resistance of the European eel *Anguilla anguilla* to the herbicide molinate, *Chemosphere*, **45**, 671-681.
- Piner, P.,** 2005. Fenthion içeren ortamda BSO ve NAC'nin *Oreochromis niloticus*'da beyin dokusunda glutatyon metabolizması, lipid peroksidasyonu ve asetilkolinesteraz aktivitesine etkileri, *Yüksek Lisans Tezi*, Biyoloji Anabilim Dalı, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Placer, Z.A., Cushman, L. and Johnson, B.C.,** 1966. Estimation of products of lipid peroxidation (Malonyl dialdehyde) in biological fluids, *Analytical Biochemistry*, **16**, 359–364.
- Puangkaew, J., Kiron, V., Satoh, S. and Watanabe, T.,** 2005. Antioxidant Defense of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Relation to Dietary n-3 Highly Unsaturated Fatty Acids and Vitamin E Contents, *Comparative Biochemistry and Phsiology Part C*, **140**, 187-196.
- Radi, A.A.R., Hay, D.Q., Matokovicks, B. and Gabryelak, T.,** 1985. Comparative antioxidant enzyme study in freshwater fish with different types of feding behaviour, *Comparative Biochemistry and Physiology C*, **81**, 395-399.
- Roche, H. and Boge, G.,** 1996. Fish blood parameters as a potential tool for identification of stress caused by environmental factors and chemical intoxication, *Mar. Environ. Res.* **41**, 27–43.
- Sayeed, I., Parvez, S. Pandey, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R. and Raisuddin, S.,** 2003. Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **56**, 295–301.
- Sekine, M., Nakanishi, H. and Ukita, M.,** 1996. Study on fish mortality caused by the combined effects of pesticides and changes in environmental conditions, *Ecol. Model.* **86**, 259–264.
- Sen, C.K. and Packer, L.,** 2000. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *American Journal of Clinical Nutrition*, **72**, 653-669.

- Sharma, D.K. and Ansari, B.A.,** 2013. Effects of deltamethrin on CAT,LPO and GSH in tissues of zebrafish *Danio rerio*, *Research Journal of Environmental Toxicology*, **7 (1)**, 38-46.
- Sümbüloğlu, K.,** 1998. Biyoistatistik, Hatipoğlu Yayınevi, Yayın No: 53, Ankara.
- Stephensen, E., Sturve, J. and Forlin, L.,** 2002. Effects of redox cycling compounds on glutathione content and activity of glutathione-related enzymes in rainbow trout liver, *Comparative Biochemistry and Physiology C*, **133**, 435- 442.
- Toker, N.K.,** 1990. Oksijen Toksisitesi ve Serbest Radikaller, *İstanbul Tıp Fakültesi Mecmuası*, **53 (2)**, 157-161.
- Toros, S. ve Maden, S.,** 1991. Tarımsal Savaşım Yöntem ve İlaçları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 1222, Ders Kitabı No: 352, Ankara.
- Tuncer, E.,** 1987. Tarımsal ilaçların çevre kirliliği üzerine etkileri ve alınması gereken önlemler, T.C. Tarım Bakanlığı Ziraî Mücadele ve Karantina Genel Müdürlüğü, Basılmamış seminer notları, Sivas.
- Trenzado, C., Carmen, H.M., Gallego, M.G., Morales, A.E., Furne, M., Domezain, A., Domezain, J. and Sanz, A.,** 2006. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in sturgeon *Acipenser naccarii* and trout *Oncorhynchus mykiss*, A comparative study, *Aquaculture*, **254 (1-4)**, 758-767.
- Vijverberg, H.P. and de Weille JR.,** 1985. The interaction of Piretroits with voltage-dependent on Na channels, *Neurotoxicology*, **6**, 23-34.
- Vinagre, C., Madeira, D., Narciso, L., Cabral, H.N. and Diniz, M.,** 2012. Effect of temperature on oxidative stress in fish: Lipid peroxidation and catalase activity in the muscle of juvenile seabass, *Dicentrarchus labrax*, *Ecological Indicators*, **23**, 274-279.
- Welker, T.L. and Congleton, J.L.,** 2004. Oxidative stress in juvenile chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum), *Aquaculture Research*, **35**, 881-887.
- Yanbeyi, S.,** 1999. Aspirin ve antioksidant buthylyated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri, *Doktora Tezi*, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun.
- Yonar, M.E. and Sakin, F.,** 2011. Ameliorative Effect of Lycopene on Antioxidant Status in *Cyprinus carpio* During Piretroit Deltamethrin Exposure, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **99**, 226-231.
- Yonar, M.E., Yonar, S.M., Çoban, M.Z. and Eroğlu, M.,** 2011. Pullu sazan (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)'da kromla oluşturulan oksidatif strese karşı propolisin antioksidan özelliğinin araştırılması, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP- 1950).

ÖZGEÇMİŞ

Elazığ'da 1981 tarihinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'ni 2003 yılında kazandım. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Elazığ Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü'nde 2010 yılında göreve başladım. Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı'nda 2011 yılında yüksek lisans yapmaya başladım. Evliyim ve bir kız çocuğu babasıyım.

Ahmet Turan SAN