

# Farklı su sıcaklıklarında deltamethrin uygulanan pullu sazan (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)'da oksidatif stresin belirlenmesi

## Determination of oxidative stress in scaly carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) exposed to deltamethrin in different water temperature

Ahmet Turan San<sup>1</sup> • M. Enis Yonar<sup>2\*</sup> 

<sup>1</sup> Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Elazığ Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Elazığ, Türkiye

<sup>2</sup> Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, 23119, Elazığ, Türkiye

\* Corresponding author: [meyonar@gmail.com](mailto:meyonar@gmail.com)

Received date: 22.02.2017

Accepted date: 26.05.2017

### How to cite this paper:

San, A.T. & Yonar, M.E. (2017). Determination of oxidative stress in scaly carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) exposed to deltamethrin in different water temperature. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 34(3): 281-286. doi:10.12714/egejfas.2017.34.3.06

**Öz:** Bu çalışmada, farklı sıcaklıklarda deltamethrin uygulanmış pullu sazanda oksidatif stresin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla balıklar, termostatlı ısıtıcılarla su sıcaklıkları 23 °C'ye ayarlanmış 6 farklı cam akvaryumda stoklanmıştır. 15 günlük adaptasyon süresinden sonra, balıkların yerleştirildiği akvaryumlardan ikisinin su sıcaklığı 18 °C'ye düşürülürken, diğer ikisinin ise 28 °C'ye yükseltilmiştir. Bu gruplara 0.036 µg/L konsantrasyonunda deltamethrin 14 gün süreyle verilmiştir. Deneme sonunda balıklardan karaciğer ve solungaç örnekleri alınmıştır. Bu örneklerde lipid peroksidasyonun bir göstergesi olarak malondialdehit (MDA) düzeyi, redükte glutatyon (GSH) düzeyi ile glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesi belirlenmiştir. Kontrol grubuyla kıyaslandığında, 18 °C ve 28 °C'deki grupların karaciğer ve solungaçlarındaki MDA düzeyinin arttığı görülmüştür. Sıcaklıktaki değişimle eşzamanlı olarak deltamethrin uygulanan gruplarda MDA düzeyleri 18 °C ve 28 °C'deki gruplardan daha yüksek bulunmuştur. Bu artış sıcaklığın 23 °C' de kaldığı ve deltamethrin uygulanan grupta da gözlemlenmiştir. Kontrol grubuyla kıyaslandığında, 18 °C ve 28 °C'deki grupların karaciğer ve solungaçlarındaki GSH düzeyleri ve GST aktivitelerinin azaldığı belirlenmiştir. Sıcaklıktaki değişimle eşzamanlı olarak deltamethrin uygulanan gruplarda GSH düzeyleri ve GST aktiviteleri 18 °C ve 28 °C'deki gruplardan daha düşük bulunmuştur. Bu azalma sıcaklığın 23 °C' de kaldığı ve deltamethrin uygulanan grupta da görülmüştür.

**Anahtar kelimeler:** Balık, glutatyon-S-transferaz, malondialdehit, oksidatif stres, redükte glutatyon, sıcaklık

**Abstract:** In this study, it was aim to investigate oxidative stress in scaly carp (*Cyprinus carpio*) exposed to deltamethrin 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 two aquarium were decreased to 18 °C, while temperatures of the other two were increased 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 taken. 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.

**Keywords:** Fish, glutathione-S-transferase, malondialdehyde, oxidative stress, reduced glutathione, temperature

## GİRİŞ

Tüm canlı organizmalarda olduğu gibi balıklarda da tüm yaşamsal faaliyetler sıcaklık değişiminden etkilenmektedir. Ovaryum ve yumurta gelişimi, bağışıklık sisteminin çalışması, canlı ağırlık kazanımı, osmoregülasyon gibi birçok yaşamsal faaliyet su sıcaklığının etkisi altındadır. Sıcaklık balıklar için fizyolojik açıdan kilit bir rol oynamaktadır. Balıklar poikilotermik yani soğukkanlı canlılardır. Başka bir ifadeyle bu tür canlıların vücut ısıları içinde buldukları 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 türe ve türün yaşamsal alanına bağlı olmak şartıyla biyokimyasal süreci yaklaşık iki katına çıkarmaktadır. Diğer taraftan, çözülmüş oksijen, oksijen miktarı ve oksijen tüketimi de su sıcaklığından etkilenmektedir (Dikel, 2009).

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). 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 ve strese yol açarak hastalıklara karşı duyarlı hale gelme gibi sonuçlar doğurarak balık popülasyonlarını olumsuz etkilemektedir. Ayrıca pestisitler balık vücudunda birikerek insanlara kadar ulaşabilmektedir (Atamanalp ve Yanık, 2001; Karasu Benli ve Gülen, 2009).

Piretiroit 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, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Lipid peroksidasyonunun en önemli ürünü malondialdehit (MDA)'tir. 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. Antioksidan savunma mekanizmaları, birincil ve ikincil mekanizmalar üzere iki kategoride sınıflandırılırlar. Birincil savunma sistemleri antioksidan bileşikler ve antioksidan savunma enzimleri olmak üzere iki grubu içerir. Antioksidan bileşikler, glutatyon,  $\beta$ -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 (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 sazadaki 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.

## MATERYAL VE METOT

Çalışmada, DSİ IX. Bölge Müdürlüğü Keban Su Ürünleri Şube Müdürlüğü'nden temin edilen, yaklaşık ağırlığı  $30 \pm 5$  g ve boyu  $10 \pm 2$  cm olan 0+ yaş grubundaki 180 adet pullu sazan (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) kullanılmıştır. Çalışma, Fırat Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Protokol No: 2015/113).

Araştırma, Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde bulunan balık havuzlarında ve Balık Hastalıkları Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Araştırmada  $33 \times 100 \times 60$  cm boyutlarındaki 18 akvaryum kullanılmıştır.

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) kullanılmıştır.

Çalışmada canlı olarak temin edilen pullu sazan (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) örnekleri akvaryumlara her birinde 10 adet olacak şekilde yerleştirilmiştir. 15 günlük adaptasyon süresinden sonra, balıkların yerleştirildiği akvaryumlardan ikisinin sıcaklığı  $18^\circ\text{C}$ 'ye düşürülürken, diğer ikisinin ise  $28^\circ\text{C}$ 'ye yükseltilmiştir. Bu işlem her iki saatte bir sıcaklığın  $1^\circ\text{C}$  azaltılması/artırılması şeklinde yapılmıştır. Böylece  $18$ ,  $23$  ve  $28^\circ\text{C}$  su sıcaklığına sahip aşağıdaki gruplar oluşturularak deltamethrin uygulanmıştır.

**Grup 1 ( $18^\circ\text{C}$ ):**  $18^\circ\text{C}$  sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanmayan balıklar,

**Grup 2 ( $23^\circ\text{C}$ ):**  $23^\circ\text{C}$  sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanmayan balıklar (Kontrol grubu),

**Grup 3 ( $28^\circ\text{C}$ ):**  $28^\circ\text{C}$  sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanmayan balıklar,

**Grup 4 ( $18^\circ\text{C} + \text{DM}$ ):**  $18^\circ\text{C}$  sıcaklıkta tutulan ve  $0.036 \mu\text{g/L}$  konsantrasyonunda deltamethrin uygulanan balıklar,

**Grup 5 ( $23^\circ\text{C} + \text{DM}$ ):**  $23^\circ\text{C}$  sıcaklıkta tutulan ve  $0.036 \mu\text{g/L}$  konsantrasyonunda deltamethrin uygulanan balıklar,

**Grup 6 ( $28^\circ\text{C} + \text{DM}$ ):**  $28^\circ\text{C}$  sıcaklıkta tutulan ve  $0.036 \mu\text{g/L}$  konsantrasyonunda deltamethrin uygulanan balıklar.

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

Sazanlar için optimum su sıcaklığı  $22-24^\circ\text{C}$  olduğu için (Çelikkale, 1994),  $23^\circ\text{C}$  sıcaklıkta tutulan ve deltamethrin uygulanmayan balıklar kontrol grubu olarak seçilmiştir. Deltamethrin konsantrasyonu ( $0.036 \mu\text{g/L}$ ;  $\text{LC}_{50}$  değerinin yaklaşık  $1/2'$  si) ise Köprücü ve Aydın (2004)' e göre belirlenmiştir. Çalışma 3 tekrarlı olarak yürütülmüş ve her bir

tekrar için 60 adet olmak üzere toplamda 180 balık kullanılmıştır.

Araştırma 14 gün sürmüştür ve çalışmanın 3., 7. ve 10. günlerinde akvaryum sularının 2/3'ü sifonlama yapılarak değiştirilmiştir. Eksilen sular daha önceden sıcaklıkları 18, 23 ve 28 °C'ye ayarlanmış sularla tamamlanmıştır. Ayrıca bu günlerde deltamethrin konsantrasyonu da yenilenmiştir.

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

Karaciğer ve solungaç örneklerinde antioksidan parametrelerin belirlenmesi için homojenatlar hazırlanmıştır. Bunun için örnekler serum fizyolojik (% 0,09 NaCl) ile yıkanmış, iki süzgeç kağıdı arasında suyu alındıktan sonra %1,15'lik KCl içinde 1/10 oranında sulandırılarak homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenatların 50 ml'lik propilen tüplerde soğutmalı santrifüjde 3200 rpm'de +4 °C'de 10 dakika santrifüjden sonra süpernatantları alınmıştır.

Karaciğer ve solungaç örneklerinin MDA düzeylerinde meydana gelen değişimler Placer vd. (1966)'dan modifiye edilen yöntemle göre, GSH düzeylerinde meydana gelen değişimler Ellman (1959) tarafından bildirilen metotla ve GST aktivitesi Habig vd. (1974) tarafından bildirilen yöntemle göre spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Doku protein miktarları MDA ve GSH düzeyleri ile GST spesifik enzim aktivitesini

hesaplamak amacıyla Lowry vd. (1951) tarafından tarif edilen yöntemle göre belirlenmiştir.

Denemede elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri SPSS 12.0 istatistik programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kontrol ve deneme grubu balıklarının incelenen parametrelerinde meydana gelen değişimler tek yönlü varyans analizi (ONEWAY – ANOVA) ile test edilmiştir. Gruplar arasındaki farklılığın tespitinde ise Tukey testinden yararlanılmıştır (Sümbüloğlu, 1998; Kocaçalışkan ve Bingöl, 2008; Kalaycı, 2010).

## BULGULAR

Çalışmaya başlamadan önceki 15 günlük adaptasyon sürecinde balıklarda herhangi bir ölüm olayına rastlanmamıştır. Adaptasyon ve deneme süresi boyunca yem alımlarında herhangi bir aksaklık yaşanmamıştır. Deneme süresi boyunca kontrol ve deneme grubu balıklarında ölüm gözlenmemiştir. Su sıcaklığının ayarlanan seviyelerde sabit kaldığı ve değişiklik göstermediği tespit edilmiştir.

Kontrol ve deneme grubu balıklarının karaciğer ve solungaç MDA ve GSH düzeyleri ile GST enzim aktivitesindeki değişimler Tablo 1,2 ve 3' de gösterilmiştir.

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 artış göstermiştir ( $p<0.05$ ). Bu artış, sıcaklığın 23 °C'de kaldığı ve deltamethrin uygulanan grup (23 °C + DM)'ta da görülmüştür ( $p<0.05$ ).

**Tablo 1.** Kontrol ve deneme grubu balıklarının dokularındaki MDA düzeyleri (Ortalama  $\pm$  standart hata, nmol/g protein, her bir grup için n=30)  
**Table 1.** MDA levels in the tissues of fish in control and experimental groups (Mean  $\pm$  standard error, nmol/g protein, n=30 for each group)

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

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  $\mu$ g/L konsantrasyonunda deltamethrin uygulanan balıklar, 23 °C + DM: 23 °C sıcaklıkta tutulan ve 0.036  $\mu$ g/L konsantrasyonunda deltamethrin uygulanan balıklar, 28 °C + DM: 28 °C sıcaklıkta tutulan ve 0.036  $\mu$ g/L konsantrasyonunda deltamethrin uygulanan balıklar.

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

Sıcaklığın azaldığı (18 °C) ve arttığı (28 °C) gruplarda karaciğer ve solungaç GSH düzeyleri kontrol grubu (23 °C)'na göre azalmıştır ( $p<0.05$ ). Bu azalmalar, sıcaklıktaki değişimle eşzamanlı olarak deltamethrin uygulanan gruplar (18 °C + DM ve 28 °C + DM)'da daha fazla olmuştur ( $p<0.05$ ). Sıcaklığın 23 °C'de kaldığı ve deltamethrin uygulanan grup (23 °C + DM)'ta da bu azalma görülmüştür ( $p<0.05$ ).

Sıcaklığın azaldığı (18 °C) ve arttığı (28 °C) gruplarda karaciğer ve solungaç GST aktiviteyi kontrol grubu (23 °C)'na göre azalmıştır ( $p<0.05$ ). Bu azalmalar, sıcaklıktaki değişimle eşzamanlı olarak deltamethrin uygulanan gruplar (18 °C + DM ve 28 °C + DM)'da daha fazla olmuştur ( $p<0.05$ ). Sıcaklığın 23 °C'de kaldığı ve deltamethrin uygulanan grup (23 °C + DM)'ta da bu azalma gözlemlenmiştir ( $p<0.05$ ).

**Tablo 2.** Kontrol ve deneme grubu balıklarının dokularındaki GSH düzeyleri (Ortalama  $\pm$  standart hata,  $\mu\text{mol/g}$  protein, her bir grup için  $n=30$ )  
**Table 2.** GSH levels in the tissues of fish in control and experimental groups (Mean  $\pm$  standard error,  $\mu\text{mol/g}$  protein,  $n=30$  for each group)

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

a,b,c,d,e,f Aynı sütündeki farklı harfler istatistiksel farkı göstermektedir ( $p<0.05$ )

**Tablo 3.** Kontrol ve deneme grubu balıklarının dokularındaki GST aktiviteleri (Ortalama  $\pm$  standart hata,  $\mu\text{mol/dakika/mg}$  protein, her bir grup için  $n=30$ )

**Table 3.** GST activities in the tissues of fish in control and experimental groups (Mean  $\pm$  standard error,  $\mu\text{mol/dakika/mg}$  protein,  $n=30$  for each group)

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

a,b,c,d,e Aynı sütündeki farklı harfler istatistiksel farkı göstermektedir ( $p<0.05$ )

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Diğer yüksek omurgalı canlılarda olduğu gibi balıklarda da lipid peroksidasyonun bir ürünü olan MDA hücre sel bileşenlerde meydana gelen oksidatif zararın en önemli göstergesidir (Morales vd., 2004). Bu çalışmada da organ ve dokularda meydana gelen oksidatif stresin belirlenmesi için MDA düzeyindeki değişimler incelenmiştir.

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  $\mu\text{g/L}$  ve 0.036  $\mu\text{g/L}$  konsantrasyonlarındaki deltamethrinin sazanların kan, karaciğer, böbrek ve solungaçlarında MDA düzeyini artırarak oksidatif strese sebep olduğunu bulmuşlardır. Benzer bir sonuç Sayeed vd. (2003) tarafından bulunmuş, 25  $\pm$  2 °C'de 48 saat için 0.75  $\mu\text{g/L}$  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.

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 lipid 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 kültüre alınan sazanlarda hepatopankreas ve kas dokusundaki TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) düzeyinin 35 °C'de tutulan balıklarda 25 °C'de tutulanlara kıyasla arttığı, bu balıklara C vitamini uygulamasıyla bu olumsuzluğun giderildiği belirlenmiştir. Diğer taraftan düşük sıcaklığın balıklarda oluşturduğu oksidatif stres de araştırılmıştır. Örneğin sıcaklığın 11 °C'den 8 °C'ye sıcaklığın düşürülmesiyle strese sokulmuş somonların karaciğer, böbrek ve beyin dokularındaki lipid peroksidasyon düzeyleri araştırılmış, 48. saatten itibaren MDA düzeylerindeki artış en yüksek böbrekte en az karaciğerde belirlenmiştir. Bunun nedeni de karaciğerde E vitamini 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) sıcaklıkta 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 düzeylerinin arttığı belirlenmiştir.

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 ve McLellan, 1999). 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). 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 LC<sub>5</sub>, LC<sub>10</sub> ve LC<sub>20</sub> 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 optimum su sıcaklığında 5.19 µg/L konsantrasyonunda deltamethrin uygulanmış Afrika yayın balığı (*Clarias gariepinus*)'nda belirlenmiş, karaciğer, böbrek ve solungaçtaki GSH seviyelerinin azaldığı gözlemlenmiştir (Hamed, 2016). 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 araştırmışlardır. Sonuçta solungaç dokusunda GST aktivitesi kontrol grubundan düşük bulunmuştur. Benzer sonuçlar bu çalışmada da elde edilmiş kontrol grubu (23 °C)'yla aynı sıcaklıkta tutulmuş ve deltamethrin uygulanmış gruplarda karaciğer ve solungaç dokusunun her ikisinde de GSH düzeyi ve GST aktivitesi azalmıştır.

Bu çalışmada düşük (18 °C) ve yüksek (28 °C) sıcaklıklarda tutulan fakat deltamethrin uygulanmayan balıkların karaciğer ve solungaçındaki GSH düzeyi ve GST aktivitesi, 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 sazarlarda 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). Kaur vd. (2005), kontrol grubu (20 °C)'na göre 3 saat için sıcaklığın 12 °C artırılmasıyla 32 °C'de strese sokulmuş *Channa punctata* türü balıklarda GST enzim aktivitesinin karaciğer, böbrek ve solungaç dokusunda azaldığını ifade etmişlerdir.

## KAYNAKÇA

- Arda, M., Seçer, S. & Sarıyüpeoğlu, M. (2005). Balık Hastalıkları. Ankara: Medisan Yayın Serisi.
- Atamanalp, M. & Yanık, T. (2001). Pestisitlerin Cyprinidae'lere toksik etkileri. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18:555-563.
- Çelikkale, M.S. (1994). *İçsu Balıkları ve Yetiştiriciliği (Cilt II)*. Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi Yayınları.
- Dikel, S. (2009). Su sıcaklığının balık yetiştiriciliğine etkisi. *Alinteri*, 16(B): 42-49.

Ayrıca GSH düzeyinin ve GST aktivitesinin, 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 solungaçındaki GSH düzeyi ve GST aktivitesi kontrol grubu (23 °C)'na göre düşük bulunmuştur. Bu sonucun aksine sıcaklık stresine sokulan ve arkasından deltamethrin uygulanan ve yine deltamethrin uygulandıktan sonra sıcaklık stresine sokulan *Channa punctata* türü balıkların farklı dokularında, non-enzimatik antioksidan (total tiyol ve protein tiyol) düzeylerinin yalnız sıcaklık stresine sokulan veya yalnız deltamethrin uygulananlara kıyasla daha fazla arttığı belirlenmiştir (Kaur vd., 2011). Yine aynı çalışmada araştırmacılar, 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 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.

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 olabilir.

Bu sonuçlar sıcaklık farklılıklarının balıkların fizyolojisi üzerine güçlü etkilerinin olduğunu tekrar kanıtlamıştır. Balıkların özellikle optimum aralıklar dışındaki çevresel sıcaklığa oldukça duyarlı olduğu, antioksidanların etkilerinin su sıcaklığıyla değiştiği ve sıcaklığın deltamethrinin toksisitesi üzerinde belirgin bir etkisinin olduğu sonucuna varılabilir. Fakat farklı balık türlerinde, farklı sıcaklık, süre ve konsantrasyonlarda pestisit uygulamalarının sonuçlarına ihtiyaç olduğu görülmektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma; yüksek lisans tezinden özetlenmiş ve Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Yönetim Birimi tarafından SÜF.16.04. nolu proje olarak desteklenmiştir..

- Ellman, G.L. (1959). Tissue sulphhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82:70-77. doi: [10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)

- Habig, W.H., Pabst, M.J. & Jakoby, W.B. (1974). Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *The Journal of Biological Chemistry*, 249:7130-7139.

- 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.

- Hamed, R.R., Farid, N.M., Elowa, S.H.E. & Abdalla, A.M. (2003). Glutathione related enzyme levels of freshwater fish as bioindicators of pollution. *The Environmentalist*, 23:313–322.
- Hayes, J.D. & McLellan, L.I. (1999). Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a coordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radical Research*, 31:273–300.
- Hwang, D.F. & 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. doi: [10.1016/S1096-4959\(01\)00449-3](https://doi.org/10.1016/S1096-4959(01)00449-3)
- Kalaycı, Ş. (2010). *SPSS Uygulamalı Çok Değişkenli İstatistik Teknikleri*. Ankara: Asil Yayınları.
- Karasu Benli, A.Ç. & 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. & Raisuddin, S. (2005). Heat stress-induced alterations of antioxidants in the freshwater fish *Channa punctata* Bloch. *Journal of Fish Biology*, 67:1653–1665. doi: [10.1111/j.1095-8649.2005.00872.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2005.00872.x)
- Kaur, M., Atif, F., Rizwan, A.A., Ahmad, F. & 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. doi:[10.1016/j.cbi.2011.06.011](https://doi.org/10.1016/j.cbi.2011.06.011)
- Kaya, E. (2005). Klorprifos ve deltamethrin'in kan ve beyin lipid peroksidasyon ve antioksidan enzim aktivitelere etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Isparta.
- Kocaçalışkan, İ. & Bingöl, N.A. (2008). *Biyoistatistik*. Ankara: Nobel Yayınları.
- Köprücü, K. & 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. doi: [10.1016/j.pestbp.2004.05.004](https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2004.05.004)
- Lloyd, R. (1992). *Pollution and Freshwater Fish*. Cornwall: A Buckland Foundation Book, Fishing News Books.
- Lowry, O.H., Rosenberough, N.J., Farr, A.L. & Randal, R.J. (1951). Protein measurement with folinphenol reagent. *Journal of Biochemistry*, 193:265–275.
- Miše Yonar, S., Yonar, M.E., Sağlam, N. & Silici, S. (2013). Farklı su sıcaklıklarında tutulmuş pullu sazan (*Cyprinus carpio carpio* linnaeus, 1758)'nin karaciğer ve böbreğindeki bazı antioksidan parametreler üzerine propolisin etkisi. *Menba, Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 1:11–16.
- Morales, A.E., Pérez-Jiménez, A., Hidalgo, M.C., Abellán, E. & Gabriel C.G. (2004). Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in *Dentex dentex* liver. *Comparative Biochemistry and Physiology C*, 139(1-3):153–161. doi: [10.1016/j.cca.2004.10.008](https://doi.org/10.1016/j.cca.2004.10.008)
- Özcan Oruç, E. & 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. doi: [10.1016/j.etap.2006.06.005](https://doi.org/10.1016/j.etap.2006.06.005)
- Parihar, M.S. Javeri, T., Hemnani, T., Dubey, A.K. & 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. doi: [10.1016/S0306-4565\(97\)00006-5](https://doi.org/10.1016/S0306-4565(97)00006-5)
- Placer, Z.A., Cushman, L. & Johnson, B.C. (1966). Estimation of products of lipid peroxidation (Malonyl dialdehyde) in biological fluids. *Analytical Biochemistry*, 16:359–364.
- Roche, H. & Boge, G. (1996). Fish blood parameters as a potential tool for identification of stress caused by environmental factors and chemical intoxication. *Marine Environmental Research*, 41:27–43. doi: [10.1016/0141-1136\(95\)00015-1](https://doi.org/10.1016/0141-1136(95)00015-1)
- Sayeed, I., Parvez, S. Pandey, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R. & Raisuddin, S. (2003). Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56:295–301. doi: [10.1016/S0147-6513\(03\)00009-5](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(03)00009-5)
- Sharma, D.K. & 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*. Ankara: Hatipoğlu Yayınevi.
- Vinagre, C., Madeira, D., Narciso, L., Cabral, H.N. & 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. doi: [10.1016/j.ecolind.2012.04.009](https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2012.04.009)
- Welker, T.L. & Congleton, J.L. (2004). Oxidative stress in juvenile chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 35:881–887. doi: [10.1111/j.1365-2109.2004.01080.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01080.x)
- Yonar, M.E. & Sakin, F., 2011. Ameliorative effect of lycopene on antioxidant status in *Cyprinus carpio* during piretiroit deltamethrin exposure. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99:226–231. doi: [10.1016/j.pestbp.2010.12.008](https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2010.12.008)