

**KARBOSULFANIN GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARIN
(*Oncorhynchus mykiss*) ERİTROSİT
ASETİLKOLİNESTERAZ (AChE) ENZİM
AKTİVİTESİNE ETKİSİ****Erol Çapkin***

Karadeniz Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri Fakültesi, Sürmene-Trabzon

Özet:

Enzim aktivitelerindeki değişimlerin tespiti, pestisitlerin ya da diğer zararlı kimyasalların toksik etkilerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Karadeniz Bölgesinde kullanılan pestisitlerden karbosulfanın (250 g/L, EC) gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nin enzim aktivitesi üzerine olan kronik etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla ortama alıştırılan gökkuşağı alabalıkları (116.88 ±21.69 g ve 22.39 ±1.40 cm) 60 gün süreyle akarsu sisteminde (6 L/h) karbosulfanın toksik etkisine maruz bırakılmıştır. Daha önceki denemelerden elde edilen veriler dikkate alınarak, test balıklarının buldukları ortamda karbosulfan miktarı 35 µg/L olacak şekilde düzenleme yapılmıştır. Kronik test süresince gökkuşağı alabalıklarının eritrosit asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesi ölçülerek inhibisyon oranı tespit edilmiştir. Gökkuşağı alabalıklarının enzim aktivitelerindeki değişimin istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır (p<0.05). AChE inhibisyon oranındaki artış 3. haftaya kadar sürdüğü ve inhibisyon oranının % 41.32 olduğu tespit edilmiştir. Enzim aktivitesindeki değişimin balıkların davranışları üzerine etkili olduğu da belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Karbosulfan, *Oncorhynchus mykiss*, Asetilkolinesteraz (AChE)

Abstract:**Effects of carbofuran on erythrocyte
acetylcholinesterase (AChE) activities of rainbow trout
(*Oncorhynchus mykiss*)**

Detection of changes in enzyme activities has been used as a method to determine the toxic effects of pesticides or other toxic chemical. In this study, chronic effects of pesticide carbofuran (250 g/L, EC) used commonly in the Eastern Black Sea Region on enzyme activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) were determined. For this purpose, rainbow trout (116.88 ±21.69 g and 22.39 ±1.40 cm) were acclimated to the laboratory conditions and exposed to carbofuran for 60 days in flow-through system (6 L/h). According to data of preliminary tests, carbofuran concentration of test water was designed as 35 µg/L. During the chronic tests, erythrocyte acetylcholinesterase (AChE) activity of rainbow trout was measured and inhibition rate of enzyme activity was determined. Changes in enzyme activity of rainbow trout was statistically significant (p<0.05). Increase of inhibition rate on AChE activity was up to 3rd week. Inhibition rates of AChE was determined as 41.32 % and it was determined that change on enzyme activity affected fish behavior.

Keywords: Carbofuran, *Oncorhynchus mykiss*, Acetylcholinesterase (AChE)

* Correspondence to:

Erol ÇAPKIN, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri Fakültesi, 61530 Sürmene, Trabzon -TÜRKİYE
Tel: (+90 462) 752 28 05-8056 Fax: (+90 462) 752 21 58
E-mail: ecapkin@gmail.com

Giriş

Karbosulfan (2,3-dihydro-2,2-dimetil-7-benzofuran methylcarbamate) karbamat grubu pestisit olup hem tarımsal ve hem de kırsal alanda patates, şeker pancarı, pirinç, mısır ve turunçgiller gibi tarım ürünlerinde zararlı canlıların kontrolünde yaygın olarak kullanılmaktadır. Karbosulfan direkt uygulama veya yüzey akış sularıyla alıcı ortamlara karışabilmektedir. Yapılan araştırmalarda karbosulfanın yüzey suyu ve yer altı sularındaki konsantrasyonu 29 µg/L - 0.64 mg/L arasında olduğu tespit edilmiştir (Sao vd., 2008). Çeşitli şartlar altında karbosulfan çevrede uzun süre kalamaz ve su içerisinde hidrolizi için yarılanma ömrünün sıcaklık, pH ve başlangıç konsantrasyonuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Anonymous, 1994). Karbosulfanın ana bozulma ürünü karbofuran'dır. Karbofuran dışında karbosulfanın hidroliz ürünleri 7-phenol ve dibutylamin'dir. Karbosulfan akuatik ortamlarda balıklar üzerine oldukça yüksek toksik etkiye sahiptir. Karbosulfanın gökkuşağı alabalıklarının 96 saatte % 50'sini öldürdüğü konsantrasyonu 180-500 µg/L arasında olduğu bildirilmiştir (PAN, 2010).

Akuatik ortamlarda pestisitlerin toksik etkileri, kimyasal yapılarına, etki sürelerine, su kalitesine ve etki ettiği canlı türüne ve diğer faktörlere bağlı olarak değişmektedir (Fisher, 1991; Richmonds ve Dutta, 1992b; Dutta vd., 1992). Toksik etkilerinin hızlı bir şekilde belirlenmesinde enzim aktivitelerinin engelleme oranları yaygın olarak kullanılmaktadır (Dutta ve Arends, 2003). Enzimler canlılarda meydana gelen biyokimyasal reaksiyonları gerçekleştiren katalizörlerdir. Canlılarda farklı yerlerde ve yapılarda bulunan enzimlerin aktiviteleri çeşitli kirletici maddelerden etkilenmektedir. Karbamat grubu pestisitler, ağır metaller ve deterjanlar güçlü asetilkolinesteraz (AChE) engelleyicisidirler. Etkilenme oranı enzimin yapısına ve etki eden kirletici maddeye bağlı olarak değişir (Varo vd., 2003). Birçok çalışmada toksik maddelerin canlılar üzerine etkilerini belirlemek için özellikle enzimler kullanılmıştır. Bu enzimlerden bir tanesi asetilkolinesteraz (AChE)'dir. AChE'nin kirletici maddelere karşı duyarlılığı ve seçiciliği, bu enzimin farklı doku ve organlardaki aktivitesi ölçülerek tespit edilmektedir (Dutta ve Arends, 2003; Snejdarkova vd., 2004; Hanneman, 1989; Behra vd., 2002). Toksik maddeyle karşılaşan canlıların doku ve organlarındaki enzim aktivitesindeki değişim, bazen ölümlle sonuçlanan büyük

metabolik bozukluklara neden olabilmektedir. Bu bozukluklar, canlının büyüme ve gelişmesinde durma ya da yavaşlama, vücut fonksiyonlarında bozulma ya da çeşitli hastalıkların ortaya çıkması şeklinde oluşmaktadır (Huang vd., 1997; Stum vd., 1999; Minier vd., 2000).

Balıklardaki hidrolitik enzimlerin, özellikle de asetilkolin hidrolizlerin aktiviteleri, karbamat gibi bazı pestisitler tarafından engellenmektedir. Bu engellenmenin derecesi, pestisitlerin kimyasal yapısına ve türüne göre farklılıklar göstermektedir. Pestisitlerde bulunan phenitrothion aktif maddesinin canlılarda enzim aktivitesini % 60'a kadar azalttığı ve imidane aktif maddesinin ise enzim miktarında azalmalara neden olduğu bildirilmektedir (Huang vd., 1997). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda pestisitlerin bazı enzimlerin aktivitelerini önemli derecede etkilediği ve farklı organlarda önemli hasarların oluşmasına neden olduğu bildirilmiştir (Noriega vd., 2002; Parron vd., 1996). Bu araştırmayla, Karadeniz Bölgesi'ndeki tarım arazilerinde yaygın olarak kullanılan karbamat grubu pestisitlerden karbosulfan'ın gökkuşağı alabalığının eritrosit asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktivitesi üzerine kronik etkileri tespit edilmiştir.

Materyal ve Metot

Kronik toksik testlerde, ticari adı Avantaj 25 EC olan ve litrede 250 g karbosulfan içeren pestisit kullanılmıştır. Karbosulfan aktif maddelerini içeren pestisitler piyasadan temin edilmiştir.

Testlerde kullanılan gökkuşağı alabalıkları (116.88 ±21.69 g ve 22.39 ±1.40 cm) KTÜ, Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi'ne ait üretim tesisinden sağlandı. Balıklar, toksikolojik testlere başlamadan önce laboratuvar koşullarına uyum sağlamaları için, 10-12°C'da yaklaşık 15 gün süreyle tutulduktan sonra toksik denemeler yapıldı. Uyum ve test esnasında balıklar 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlıktan oluşan fotoperiyot uygulamasına tabi tutuldu. Balıklar laboratuvar koşullarına alıştırılırken ve deneme süresince vücut ağırlıklarının % 2'si oranında ticari alabalık pelet yemiyle yemlendi.

Çalışmada kullanılan suların özelliklerini belirlemek amacıyla, pestisit ilavesi yapıldıktan sonra, test suyunun sıcaklığı, çözünmüş oksijeni ve pH'sı günlük olarak; toplam sertliği, alkalinitesi, amonyak ve nitrit konsantrasyonları da haf-

talık olarak ölçüldü (Altınok vd. , 2006; Capkin vd., 2006).

Toksikolojik Testlerin Yapılışı

Deneye alınan balıklar adaptasyon öncesi incelenerek üzerlerinde dış parazitlerin bulunup bulunmadığı kontrol edildi (AFS-FHS, 2003). Daha sonra adaptasyona alınan balıklar, 150 L'lik 6 L/h akarsuya sahip deney akvaryumlarına aktarıldı. Karbosulfan kronik toksik etkisinin belirleneceği kontrol ve deney akvaryumlarına 100'er adet balık konuldu. Daha önce yapılan 96 saatlik akut toksik testlerin sonuçları ve doğal sularda tespit edilen karbosulfan konsantrasyonları göz önüne alınarak, 10-12°C'de yapılan ön denemeler sonucunda uygulanacak kronik karbosulfan konsantrasyonu belirlenmiştir (Tablo 1). Sulara in-

füzyon pompası yardımıyla devamlı olarak toksik madde aktararak balıkların içerisinde tutulduğu suların nominal pestisit konsantrasyonu 0 (kontrol) ve 35 µg/L olacak şekilde ayarlandı. Deney süresince akvaryumlara giden suya toksik madde infüzyon pompası ile karıştırılarak verildiğinden denemelerde akarsu sistemi kullanıldı (OECD, 1992). Kullanılan toksik madde çözeltisi günlük olarak hazırlandı. 60 gün süreyle bu maddeye maruz bırakılan balıkların enzim aktivitelerinde olası etkileri belirlemek için haftalık kontrol ve deneme grubunun her birinden 4'er adet olacak şekilde örnekler alındı. Kronik test süresince, test suyunun sıcaklığı, çözülmüş oksijen değeri ve pH, toplam sertliği, alkalitesi, amonyak ve nitrit konsantrasyonları ölçülmüştür (Tablo 2).

Tablo 1. Kronik toksik test özellikleri

Table 1. Chronic toxicity test features

Test türü	Kronik test, akar sistem
Test süresi	60 gün
Toksik madde	Karbosulfan (250 g/L aktif madde)
Deney hayvanı	Gökkuşuğu alabalığı (116,88±21,69 g ve 22,39±1,40 cm), 200 adet (deneme ve kontrol)
Deney akvaryumları	150 L
Toksik madde konsantrasyonu	35µg/L
Toksik madde akış hızı	5.25 mL/h
Suyun akış hızı	6 L/h

Tablo 2. Kronik test süresince su kalitesindeki değişim**Table 2.** Water quality during the cronic test

Hafta	Kontrol					Karbosulfan				
	Sıcaklık (°C)	Oksijen (mg/L)	pH	Amonyak (ng/L)	Nitrit (µg/L)	Sıcaklık (°C)	Oksijen (mg/L)	pH	Amonyak (ng/L)	Nitrit (µg/L)
0	12,01±0,01	7,90±0,11	7,05±0,03	45,15±0,29	33,18±0,57	12,01±0,02	8,01±0,10	6,85±0,01	16,21±3,00	34,45±5,45
1	12,22±0,03	8,10±0,08	7,14±0,09	33,23±1,65	27,01±0,77	12,12±0,05	7,90±0,13	7,90±0,05	24,87±2,22	61,67±3,99
2	12,46±0,02	8,00±0,03	6,91±0,02	21,54±2,34	45,23±2,34	12,30±0,01	7,45±0,09	7,45±0,01	51,54±3,44	14,98±3,23
3	12,38±0,04	8,30±0,12	7,14±0,04	41,32±5,11	57,33±6,22	12,34±0,03	8,30±0,14	8,30±0,04	71,12±4,78	50,89±7,51
4	11,90±0,01	8,01±0,05	7,22±0,07	48,22±6,21	51,32±5,13	11,90±0,03	7,90±0,01	7,10±0,04	60,18±7,41	50,12±2,11
5	12,40±0,03	8,10±0,08	7,01±0,02	21,54±2,24	45,23±2,34	12,20±0,02	8,15±0,04	7,25±0,03	50,54±3,44	14,68±3,23
6	12,30±0,02	8,40±0,10	7,10±0,03	33,32±6,11	50,33±6,52	12,30±0,01	8,75±0,11	7,23±0,02	61,12±4,32	45,89±3,34
5	12,22±0,03	8,01±0,05	7,05±0,03	41,32±5,11	57,33±6,22	12,34±0,03	7,90±0,01	7,45±0,01	71,12±4,78	50,12±2,11
6	12,40±0,03	8,00±0,03	7,14±0,03	41,54±2,34	45,23±2,34	12,12±0,05	7,90±0,13	8,30±0,04	51,54±3,44	50,89±7,51

Eritrosit Asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesinin ölçülmesi

Kan örneği, 1mL için 66 µL 0.1 M *sodyum-EDTA* içeren 10 mL plastik tüp kullanılarak alınmıştır (Wang vd., 2000). Plazma ve eritrositler (RBC), kan örneklerinin 4000 g x 60 dakika 4 °C'de santrifüj edilmesiyle elde edilmiştir. Santrifüj işlemi sonunda pelet haline gelen eritrositler % 0.9'luk NaCl ile iki kez yıkayıp 1/2 oranında potasyum fosfat (12.5 mM, pH 7.4) ile seyreltilmiştir.

Eritrosit Asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesi Ellman vd. (1961) tarafından geliştirilen metoda göre tespit edildi. Eritrositler analiz öncesi 1:100 oranında destile su ile seyreltilip -20°C'de 12 saat süreyle muhafaza edilmiştir. AChE analizinde standart AChE (Type-VI-S, EC 3.1.1.7, Sigma) ve substrat asetilkolin iyodür kullanıldı. Asetilkolin aktivitesi, 5,5'-Dithio-bis(2-nitrobenzoik) asit (DTNB, Sigma, St. Louis, MO, USA) kullanılarak belirlenmiştir. Bu protokolda kısaca; 140 µL 0.1 mM sodyum fosfat buffer (pH 8.0) çözeltisine, 20 µL DTNB, 20 µL test çözeltisi ve 20 µL AChE çözeltisi ilave edilip 25°C'de 15 dakika inkübasyon yapıldı. Reaksiyon, asetilkolin iyodür eklenerek başlatıldı. Asetilkolin iyodür hidrolizi DTNB'nin tiokolinlerin reaksiyonu sonucu oluşan, sarı renkli 5-thio-2-nitrobenzoat oluşumundan gözlemlendi. AChE enzim aktivitesi, 412 nm

dalga boyunda ölçülen absorban değerlerinden, tiokolin oranının tespit edilmesiyle belirlendi. Ölçümler üç paralel olarak yapıldı. Aktivite µmol/(dakika % hematokrit) olarak ifade edildi.

Verilerin istatistiksel açıdan değerlendirilmesi

Çalışma sırasında ve sonunda elde edilen sonuçlar istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir. Analitik yöntemlerin validasyonu aşamasında standart maddeler ile elde edilen kalibrasyon doğrularının kalitesi için regresyon analizi uygulanmıştır. Gün içi/günler arası varyasyon, biyolojik örneklerden geri kazanım yüzde hesapları, standart sapma ve standart hata hesaplamaları için Microsoft Office Excel programı kullanılmıştır. *In vivo* bölümde elde edilen sonuçlarda korelasyon, iki ortalama arası farkın önem testi vb. analizler için SPSS® paket programı kullanılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Kronik toksik testlerde kullanılan gökkuşuğu alabalıklarının laboratuvar ortamına alışmalarında ve kronik deney süresince kullanılan balıklarda ölümlere rastlanmamıştır. Kronik toksik test süresince 8. saate kadar birer saat aralıklarla ve 24. saatten sonra güneşli olarak alabalıkların davranışları gözlemlenmiştir. Kontrol grubundaki alabalıklar test süresince normal davranış göstermiştir. Davranış değişimleri toksik

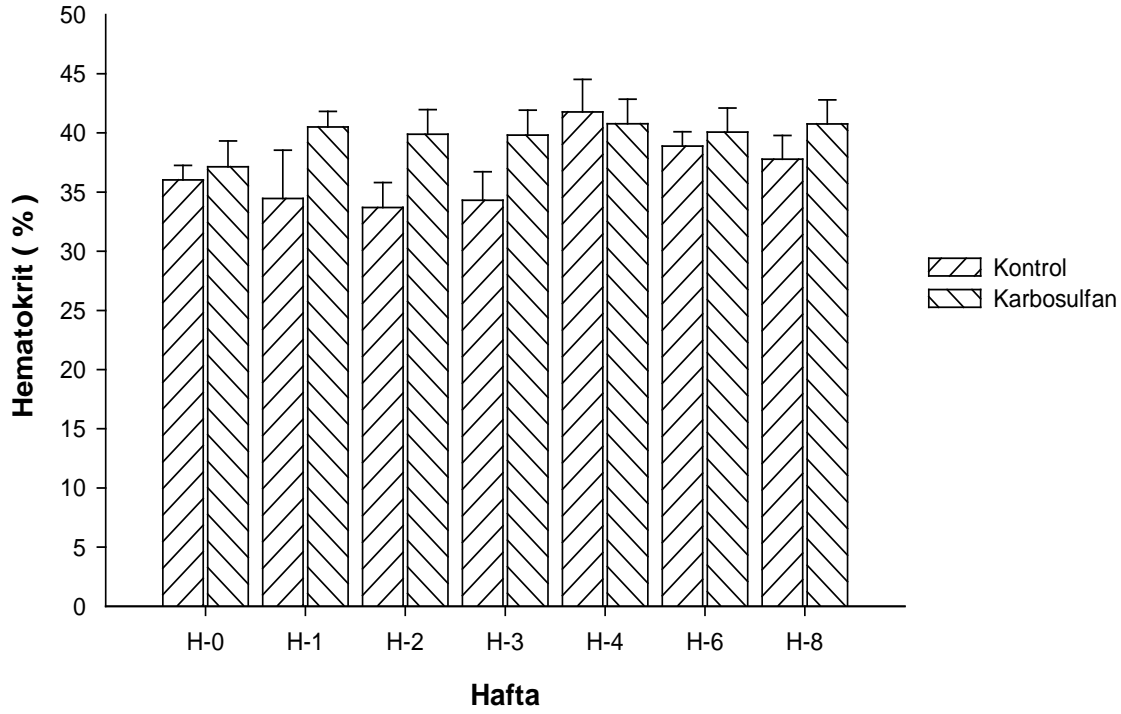
madde verilmeye başladıktan 2 saat sonra başlamıştır. Gözlenen davranış değişimlerinin kontrol grubuna göre çok daha az hareketlilik, huzursuzluk, renkte kararma, denge kaybı ve belli bir alanda genellikle suyun alt kısmında uzun süreli hareketsiz kalma şeklinde olduğu saptanmıştır. Balıklarda görülen davranış bozuklukları yem değerlendirme oranını etkilemiştir. Deney sonunda (60. gün) kontrol grubu balıkların ağırlıkları % 26 oranında arttığı, test grubunda ise artışın sadece % 2 olduğu tespit edilmiştir.

Karbosulfanın kronik toksik etkisine maruz bırakılan balıklar ile kontrol grubundaki balıklardan alınan kan örneklerinde hematokrit, Eritrosit Asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesi, ilk bir ay içinde haftalık, daha sonra ise 15 günlük peryotlarla tespit edilmiştir. Karbosulfana maruz kalan alabalıkların hematokrit değerlerindeki artışın istatistiksel olarak önemli olmadığı saptanmıştır (Şekil 1).

Gökkuşluğu alabalıklarının Eritrosit Asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesindeki değişim Şekil 2'de verilmiştir. AChE aktivitesinin başlangıç değeri kontrol ve karbosulfan için sırasıyla 116.04 ± 5.18 ve 114.67 ± 8.68 iken 3. haftada bu değerler sırasıyla 116.97 ± 5.74 ve 68.64 ± 5.85 $\mu\text{mol}/(\text{dakika} \% \text{ hematokrit})$ olarak tespit edilmiştir. Karbosulfanın kronik etkisine maruz bırakılan gökkuşluğu alabalıklarının AChE aktivitesindeki değişimin 3. haftadan sonra önemli olmadığı belirlenmiştir. AChE'nin inhibisyon oranının 1. haftada % 27.03 iken 3. haftada % 41.32 olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3).

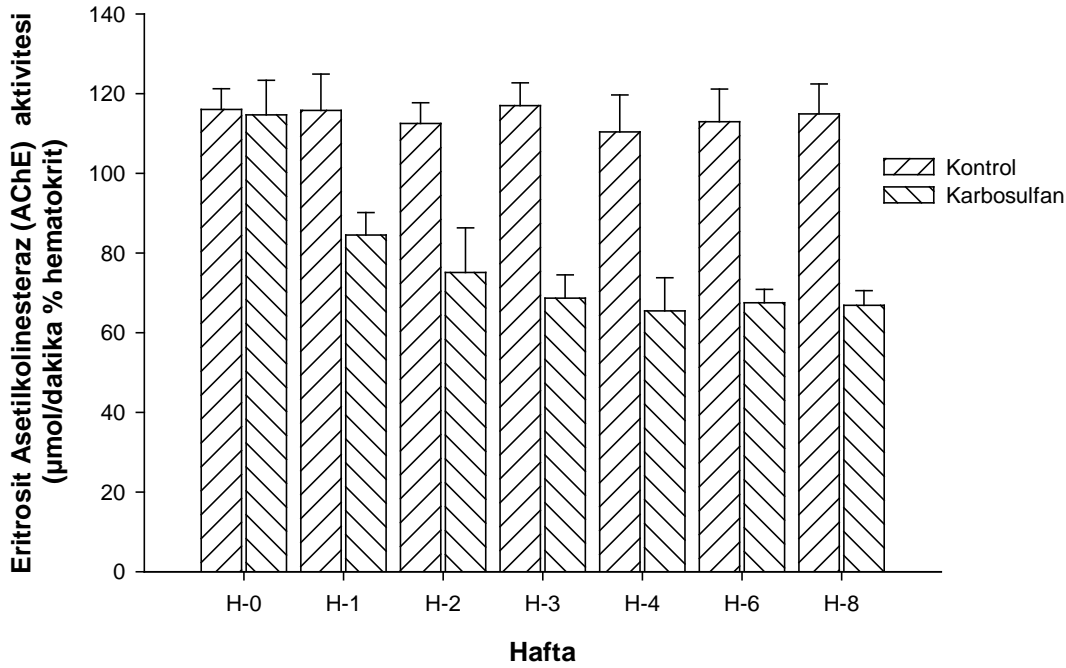
Tarım arazilerindeki çeşitli zararlıları kontrol etmek amacıyla kullanılan pestisitler, farklı yollardan nehirleri ve özellikle de denizleri kirleterek ortamda yaşayan balıkların ve diğer organizmaların olumsuz etkilenmelerine neden olurlar. Pestisitler canlı dokularındaki enzimleri inhibe etme özelliğine sahiptir. Bu nedenle, pestitlerin canlılara olan toksik etkilerinin belirlenmesinde, bu canlıların enzim aktivitesinde meydana gelen değişikliklerin saptanması önemli rol oynamaktadır (Burgeot vd., 1996; Huang vd., 1997; Minier vd., 2000). Enzim aktivitesinin inhibe olması; balıklar için her zaman ölümcül olmayabilir, fakat vücut fonksiyonlarında önemli değişimlere neden olmaktadır (Escartin ve Porte, 1996; Sturn vd., 1999).

Davranış değişiklikleri, potansiyel toksik etkilerin en duyarlı belirteçleridir. Su kalitesindeki bozulmalar balıklarda davranış bozukluklarına neden olur. Bu nedenle toksik test çalışmalarında balık davranışlarının tespit edilmesi oldukça önemlidir (Richmonds ve Dutta, 1992a; Halappa ve David, 2009). Ferrando vd. (1991), yapmış oldukları çalışmada endosülfan, diazinon, fenitrotyon ve metilparation'un yılan balığındaki davranış değişimlerini rapor etmişlerdir. Balıklarda huzursuzluk, yüzme şeklinde düzensizlik, denge kaybı, mukus salgısında artış ve renk değişim gibi belirtiler tespit etmişlerdir. Belirlemiş oldukları davranış değişimleri bu çalışmadaki sonuçlar ile benzerlik göstermektedir.



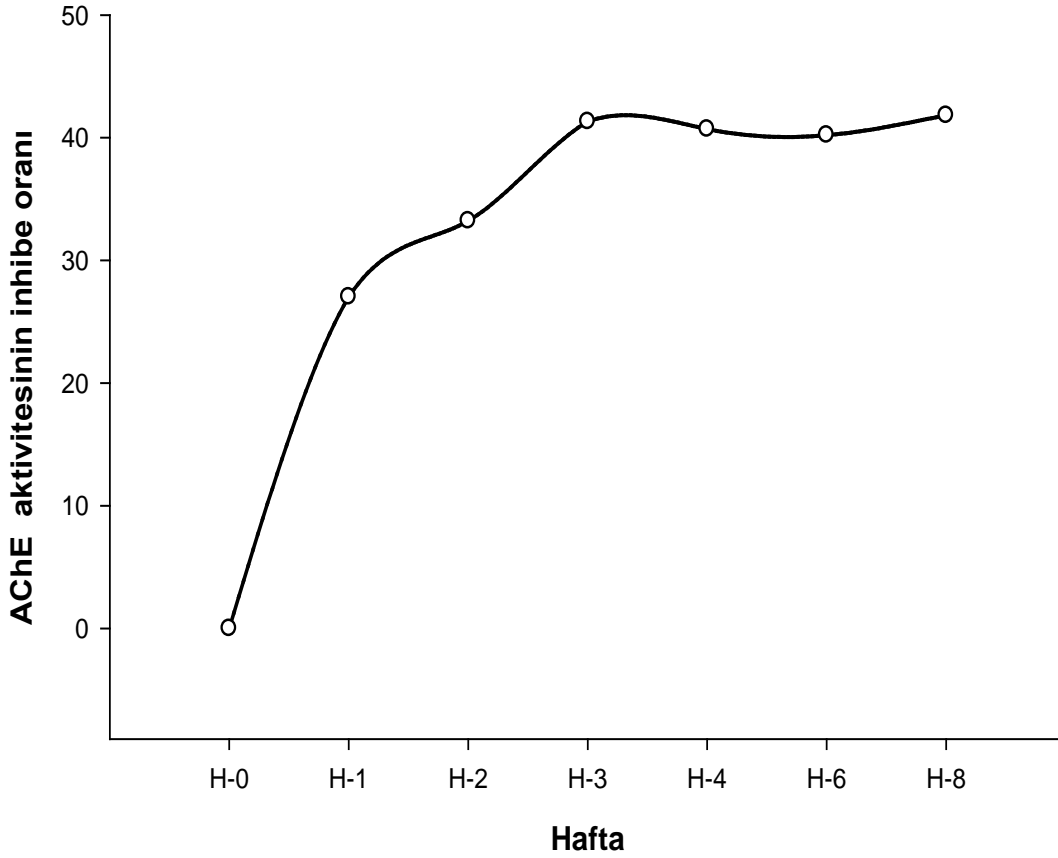
Şekil 1. Karbosulfanın kronik etkisine maruz bırakılan gökkuşuğu alabalıklarından alınan kan örneklerindeki hematokrit (%) değerleri

Figure 1. Hematocrit (%) values of blood samples in rainbow trout exposed to carbosulfan.



Şekil 2. Karbosulfanın kronik etkisine maruz bırakılan gökkuşuğu alabalıklarının Eritrosit Asetilkolinesteraz (AChE) aktivitelerindeki değişim.

Figure 1. Erythrocyte acetylcholinesterase (AChE) activity in the rainbow trout exposed to carbosulfan.



Şekil 3. Gökkuşluğu alabalıklarının eritrosit asetilkolinesteraz (AChE) aktivitelerinin inhibisyon oranı.

Figure 2. Inhibition rate of erythrocyte acetylcholinesterase (AChE) activity in the rainbow trout exposed to carbosulfan.

Balıklar kullanılarak yapılan araştırmada, organofosfat ya da karbamat gibi antikolinesteraz pestisitlerin hedef olmayan organizmalara karşı önemli akut ve birçok kronik etkiler meydana getirdiği tespit edilmiştir (WHO, 1993). Subletal etkiler farklı enzimlerin inhibe edilmesini kapsar. Bu enzimlerden en çok bilineni AChE'dir (Weiss, 1959). Salles vd. (2006), organofosfat grubu pestisitlerin, balıklardaki asetilkolinesteraz (AChE) ve butilkolinesteraz (BChE) enzimlerine etkisini araştırmışlardır. Çalışmada BChE'nin bazı balıklarda antikolin pestisitlere karşı koruyucu bir özelliğe sahip olduğu tespit edilirken, bazı balıklarda ise bu özellik belirlenmemiştir. Küster (2005), insektisitlerin zebra balıklarına (*Danio rerio*) olan etkilerini araştırmıştır. Çalışmada, pestisitlerin balıklarda karboksilesteraz ve kolinesteraz aktivitelerini önemli derecede inhibe ettiği tespit edilmiştir. Benzer bir araştırmada da karbofuran (50 µg/L) ve malathioninin (500

µg/L), zebra balıklarının beyin membranlarındaki asetilkolinesteraz enzim aktivitesini sırasıyla % 24.5 ve % 58.5 oranında düşürdüğü belirlenmiştir. Çalışmamızda karbosulfanın kronik etkisine 60 gün maruz bırakılan gökkuşluğu alabalıklarının AChE aktivitesinin inhibisyon oranı % 41.32 olarak tespit edilmiştir.

Bazı pestisitlerin (deltamidrin, diozinon, dorzolamide ve brinzolamide) alabalıklar ve sazarlarda bulunan karbonik anhidraz enzimine karşı etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir araştırmada, kolinesteraz aktivitesinin pestisitler tarafından önemli derecede inhibe edildiği saptanmıştır. Bu çalışmada, inhibe oranının pestisit türüne göre farklılıklar gösterdiği ve en yüksek inhibasyonun deltamidrine maruz bırakılan balıklarda olduğu görülmüştür (Doğan, 2006). Pestisitlerin subakut konsantrasyonlarının kullanıldığı toksik çalışmalarda, enzimatik aktivitelerdeki değişimin; direkt olarak metabolik bozukluk ve

spesifik organlardaki hücrelerin zarar görmesi şeklinde etkiler meydana getirdiği tespit edilmiştir (Casillas vd., 1983). Enzim aktivitesinin engellenmesi ayrıca balıklarda davranışsal ve morfolojik değişikliklere neden olduğu bildirilmiştir (Halappa ve David, 2009). Çalışmamızda, balıklarda ilk haftalar görülen davranış bozuklukları enzim aktivitelerindeki ani düşüşlerden kaynaklandığı söylenebilir. Ayrıca balıkların yem alma oranını önemli derecede etkileyerek iki ay sürede balıkların ağırlık artışı % 2 oranında kalmıştır.

Sonuç

Bu araştırma ile tarım arazilerinde yoğun olarak kullanılan pestisitlerden karbosulfanın gökkuşağı alabalıklarının enzim aktivitesi üzerine olan kronik etkisi belirlenmiştir. Karbosulfanın kronik etkisine maruz bırakılan gökkuşağı alabalıklarının AChE aktivitesinin 1 ve 2. haftalarda hızlı bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir. AChE'in inhibisyon oranı % 41.32 olarak saptanmıştır. Enzim aktivitesindeki bu hızlı düşüşün balıkların davranışları üzerine etkili olduğu belirlenmiştir. Bu araştırma ile elde edilen sonuçlar, karbosulfan gibi pestisitlerin uygulamadaki kontrolü konusunda kaynak oluşturmasına yardımcı olacaktır.

Kaynaklar

- AFS-FHS, (2003). American Fisheries Society-Fish Health Section. Suggested Procedures for the Detection and Identification of Certain Finfish and Shellfish Pathogens, fifthed. Fish Health Section, American Fisheries Society, Bethesda, MD, USA.
- Altinok, I., Capkin, E., Karahan, S., Boran, M., (2006). Effects of water quality and fish size on toxicity of methiocarb, a carbamate pesticide, to rainbow trout, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **22**: 20-26. [doi:10.1016/j.etap.2005.11.002](https://doi.org/10.1016/j.etap.2005.11.002)
- Anon, (1994). International Programme On Chemical Safety, Environmental Health Criteria 153. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc153.htm>
- Behra, M., Cousin, X., Bertrand, C., Vonesch, J.L., Biellmann, D., Chatonnet, A., Strahle, U., (2002). Acetylcholinesterase is required for neuronal and muscular development in the zebrafish embryo, *Nature Neuroscience*, **5**: 111-118. [doi:10.1038/nn788](https://doi.org/10.1038/nn788)
- Burgeot, T., Bocquene, G., Porte, C., Dimeet, J., Santella, R.M., Garcia de la Parra, L.M., Pfhof-Leszkowicz, A., Raoux, C., Galgani, F., (1996). Bioindicators of pollutant exposure in the Northwestern Mediterranean Sea, *Marine Ecology Progress Series*, **131**: 125-141. [doi:10.3354/meps131125](https://doi.org/10.3354/meps131125)
- Capkin, E., Altinok, I., Karahan, S., (2006). Water quality and fish size affect toxicity of endosulfan, an organochlorine pesticide, to rainbow trout, *Chemosphere*, **64**: 1793-1800. [doi:10.1016/j.chemosphere.2005.12.050](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.12.050)
- Casillas, E., Meyers, M., Ames, W., (1983). Relationship of serum chemistry values to liver and kidney histopathology in English sole (*Parophrys vetulus*) after acute exposure to carbon tetrachloride, *Aquatic Toxicology*, **3**: 61-78. [doi:10.1016/0166-445X\(83\)90007-3](https://doi.org/10.1016/0166-445X(83)90007-3)
- Doğan, S., (2006). The in vitro effects of some pesticides on carbonic anhydrase activity of *Oncorhynchus mykiss* and *Cyprinus carpio* fish, *Journal of Hazardous Materials A*, **132**: 171-176.
- Dutta, H.M., Arends, D.A., (2003). Effects of endosulfan on brain acetylcholinesterase activity in juvenile bluegill sunfish, *Environmental Research*, **91**(3): 157-62. [doi:10.1016/S0013-9351\(02\)00062-2](https://doi.org/10.1016/S0013-9351(02)00062-2)
- Dutta, H.M., Marcelino, J., Richmonds, C., (1992). Brain acetylcholinesterase activity and optomotor behavior in bluegills, *Lepomis macrochirus* exposed to different concentrations of diazinon, *Arch Int Physiol Biochim Biophys*, **100**(5): 331-334. [doi:10.3109/13813459209000721](https://doi.org/10.3109/13813459209000721)
- Ellman, G.L., Courtney, D.K., Andres Jr., V., Featherstone, R.M., (1961). A new rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochemical Pharmacology*, **7**: 88-95. [doi:10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- Escartin, E., Porte, C., (1996). Acetylcholinesterase inhibition in the crayfish *Procambarus clarkii* exposed to fenitrothion, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **34**: 160-164. [doi:10.1006/eesa.1996.0058](https://doi.org/10.1006/eesa.1996.0058)
- Ferrando, M.D., Sancho, E. and Moliner, E.A., (1991). Comparative Acute Toxicities of Selected Pesticides to *Anguilla anguilla*, *Journal of Environmental Science and He-*

- alth B*, 26(5-6): 491-8. [doi:10.1080/03601239109372751](https://doi.org/10.1080/03601239109372751)
- Fisher, S.W., (1991). Changes in the toxicity of the three pesticides as a function of environmental pH and temperature, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 46: 197-202. [doi:10.1007/BF01691937](https://doi.org/10.1007/BF01691937)
- Halappa, R., David, M., (2009). Behavioural Responses of the Freshwater Fish, *Cyprinus carpio* (Linnaeus) Following Sublethal Exposure to Chlorpyrifos, *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 9: 233-238. [doi:10.4194/trjfas.2009.0218](https://doi.org/10.4194/trjfas.2009.0218)
- Hanneman, E., Westerfield, M., (1989). Early expression of acetylcholinesterase activity in functionally distinct neurons of the zebrafish, *Journal of Comparative Neurology*, 284: 350-361. [doi:10.1002/cne.902840303](https://doi.org/10.1002/cne.902840303)
- Huang, T.L., Obih, P.O., Jaiswal, R., Hartley, W.R., Thiyagarajah, A., (1997). Evaluation of liver and brain esterases in the spotted gar Wsh (*Lepisosteus oculatus*) as biomarkers of effect in the lower Mississippi River basin, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 58: 688-695. [doi:10.1007/s001289900388](https://doi.org/10.1007/s001289900388)
- Küster, E., (2005). Cholin- and carboxylesterase activities in developing zebrafish embryos (*Danio rerio*) and their potential use for insecticide hazard assessment, *Aquatic Toxicology*, 75: 76-85. [doi:10.1016/j.aquatox.2005.07.005](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.07.005)
- Minier, C., Levy, F., Rabel, D., Bocquene, G., Godefroy, D., Burgeot, T., Leboulenger, F., (2000). Flounder health status in the Seine Bay. A multibiomarker study, *Marine Environmental Research*, 50: 373-377. [doi:10.1016/S0141-1136\(00\)00059-3](https://doi.org/10.1016/S0141-1136(00)00059-3)
- Noriega, G.O., Gonzales, S., Tomaro, M.L., Batle, A.M., (2002). Paraquat-generated oxidative stress in rat liver induces hemoxygenase-1 and aminolevulinic acid synthase, *Free Radical Research*, 36: 633-639. [doi:10.1080/10715760290029065](https://doi.org/10.1080/10715760290029065)
- OECD, (1992). Organization for economic cooperation and development, guideline for the testing of chemicals: fish, acute toxicity test, No: 203.
- PAN, (2010). Pesticide Action Network, Pesticide Database, North America (San Francisco, CA). www.pesticideinfo.org
- Parron, T., Hernandez, A.F., Pla, A., Villanueva, E., (1996). Clinical and biochemical changes in greenhouse sprayers chronically exposed to pesticides, *Human and Experimental Toxicology*, 15: 957-963. [doi:10.1177/096032719601501203](https://doi.org/10.1177/096032719601501203)
- Richmonds, R.C. and Dutta, H.M., (1992a). Effect of Malathion on the Optomotor Behavior of Bluegill Sunfish, *Lepomis macrochirus*, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 102(3): 523-26. [doi:10.1016/0742-8413\(92\)90153-X](https://doi.org/10.1016/0742-8413(92)90153-X)
- Richmonds, R.C., Dutta, H.M., (1992b). Effect of malathion on the brain acetylcholinesterase activity of bluegill sunfish *Lepomis macrochirus*, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 49: 431-435. [doi:10.1007/BF01239648](https://doi.org/10.1007/BF01239648)
- Salles, J.B., Cunha Bastos, V.L.F., Silva Filho, M.V., Machado, O.L.T., Salles, C.M.C., Giovanni de Simone, S., Cunha Bastos, J., (2006). A novel butyrylcholinesterase from serum of *Leporinus macrocephalus*, a Neotropical fish, *Biochimie*, 88: 59-68. [doi:10.1016/j.biochi.2005.06.017](https://doi.org/10.1016/j.biochi.2005.06.017)
- Sao A., Pillai A.K., Gupta V.K., (2008). Spectrophotometric determination of carbosulfan in environmental samples, *Journal of Scientific and Industrial Research*, 67: 1088-1091.
- Snejdarkova, M., Svobodova, L., Evtugyn G., Budnikov, H., Karyakin, A., Nikolelis, D.P., Hianik, T., (2004). Acetylcholinesterase sensors based on gold electrodes modified with dendrimer and polyaniline a comparative research, *Analytica Chimica Acta*, 514: 79-88. [doi:10.1016/j.aca.2004.03.019](https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.03.019)
- Sturn, A., Silva de Assis, H.C., Hansen, P.D., (1999). Cholinesterases of marine teleost fish: enzymological characterization and potential use in the monitoring of neurotoxic contamination, *Marine Environmental Research*, 47: 389-398. [doi:10.1016/S0141-1136\(98\)00127-5](https://doi.org/10.1016/S0141-1136(98)00127-5)
- Varo, I., Navarro, J.C., Amat, F., Guilhermino, L., (2003). Effect of dichlorvos on cholinesterase activity of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*), *Pesticide Bioche-*

- mistry and Physiology*, **75**: 61-72.
[doi:10.1016/S0048-3575\(03\)00019-1](https://doi.org/10.1016/S0048-3575(03)00019-1)
- Wang, L.Z., Gorlin, J., Michaud, S. E., Janmey, P.A., Goddeau, R.P., Kuuse, R., Uibo, R., Adams, D., Sawyer, E.S., (2000). Purification of Salmon Clotting Factors and Their Use as Tissue Sealants, *Thrombosis Research*, 100 (6), 537-548.
[doi:10.1016/S0049-3848\(00\)00362-5](https://doi.org/10.1016/S0049-3848(00)00362-5)
- Weiss, C.M., (1959). Response of fish to sub-lethal exposures of organic phosphorus insecticides, *Sewage and Industrial Wastes*, 31: 580-593.
- WHO, (1993). Methyl Parathion (Environmental Health Criteria-EHC 145, 1992). International Programme on Chemical Safety, *Environ. Health Crit.* 145. World Health Organization, Geneva, pp. 1-135.