

# Karbarile maruz kalan tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) antioksidan enzim düzeyleri

[Determination of antioxidant enzyme levels of narrow clawed crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschsholtz 1823) exposed to carbaryl]

A. Çağlan Karasu Benli<sup>1</sup>,  
Duygu Şahin<sup>2</sup>,  
Burcu Koçak Memmi<sup>3</sup>,  
Aylin Sepici Dinçel<sup>4</sup>

Gazi Üniversitesi, <sup>1</sup>Fen Bilimleri Enstitüsü, Tıp Fakültesi, <sup>2</sup>Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, <sup>3</sup>Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi, <sup>4</sup>Hacettepe Üniversitesi, İnsektisit Test Laboratuvarı, 06800, Beytepe, Ankara, Türkiye

Yazışma Adresi  
[Correspondence Address]

Doç. Dr. Aylin Sepici Dinçel

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi  
Tel: 0312 2666185  
Fax: 0312 2667051  
E-mail: asepic@yahoo.com

Kayıt Tarihi : 9 Ocak 2012; Kabul Tarihi : 22 Şubat 2012  
[Registered: 9 January 2012; Accepted: 22 February 2012]

## ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmada tarımsal aktivitenin bir sonucu olarak sucul ekosisteme toksik kirlenici olarak bulaşan, karbamat grubu pestisitlerden karbarilin subletal konsantrasyonda tatlı su istakozu (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz 1823)'nin farklı dokularında, antioksidan enzim düzeylerini nasıl etkilediğinin araştırılması amaçlandı.

**Gereç ve yöntem:** Tatlı su istakozları, intermoult döneminde ve av sezonunda balıkçılardan temin edildi. Ortalama boyları 10.74±0.84 cm, ağırlıkları ise 32.78±7.12 g olarak ölçüldü. Tüm deneyler Zehirlilik Seyreltme Faktörü tayin metoduna göre yapıldı ve yarı statik biyodene yöntemini kullanıldı. Akvaryumları dozlamak için 96 saatlik LC50 değerinin 1/10'u olan 25 µg/L dozda karbaril subletal doz olarak kullanıldı. Sudaki insektisit konsantrasyonunun sabit kalması için deney ortamı 48 saat aralıklarla yenilendi. İnsektisit uygulanan gruplar dışında, çözücü olarak asetonun kullanıldığı ve hiçbir kimyasal maddenin katılmadığı iki farklı kontrol grubu oluşturuldu. Karbarile 48 saat ve 7 gün süre ile maruz kalan tatlı su istakozlarında solungaç, hepatopankreas ve kas dokularında, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz enzim aktiviteleri tayin edildi.

**Bulgular:** Karbaril uygulamasını takip eden 48. saat ve 7. günde solungaç süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz enzim aktiviteleri istatistiksel olarak anlamlı arttı (p<0.05); katalaz enzim aktivitesinde bir değişiklik gözlenmedi. Hepatopankreas süperoksit dismutaz değeri 48. saatte kontrole göre azalırken, katalaz ve glutatyon peroksidaz değerleri anlamlı artış gösterdi (p<0.05). Yedinci günde ise glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi artarken, süperoksit dismutaz ve katalaz değerleri kontrol düzeylerine döndü.

**Sonuç:** Pestisitlerin denetimlerinin iyi yapılması ve çok düşük düzeylerde bile su ünitelerine ulaşımının engellenmesi, organizmada dokuya özgül hızlı metabolik etki göstereceği düşünüerek önerilmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Karbamat, karbaril, tatlı su istakozu, *Astacus leptodactylus*, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz

**Çıkar çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması olmadığı bildirilmiştir.

## ABSTRACT

**Aim:** The aim of the present study was the determination of antioxidant enzyme levels on different organs of narrow clawed crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschsholtz 1823) after exposure to group of carbamate pesticides, contaminating aquatic ecosystems as toxic pollutant after agricultural activities.

**Materials and methods:** The intermoult stage crayfish were obtained from fishermen at fishing season. The mean length and weight were 10.74±0.84 cm, 32.78±7.12 g, respectively. All experimental procedures were done according to Toxicity Dilution Factor and semi-static method was used. The sublethal concentration of carbaryl was selected by 1/10 of 96 h LC50 values as 25 µg/L. The aquarium water were renewed every 48 h to provide the stability of test concentrations. In addition, two different control groups were conducted as negative control and acetone control. Gill, hepatopancreas and muscle tissues from crayfish exposed to 2 and 7 days to carbaryl were examined for superoxide dismutase, glutathion peroxidase and catalase enzyme activities.

**Results:** Following to carbaryl treatment for 48 h and 7 days, gill superoxide dismutase and glutathion peroxidase enzyme activities were significantly increased (p<0.05) and catalase enzyme activities were not altered. After the 48 h treatment, the superoxide dismutase levels of hepatopancreas were decreased according to control groups, glutathion peroxidase and catalase values were increased significantly (p<0.05). At the 7th day glutathion peroxidase enzyme activities were increased, superoxide dismutase and catalase values were turned back to control levels.

**Conclusion:** It is necessary to control the pesticide levels around the environment and avoid reaching them to water supplies because of being able to have rapid tissue specific metabolic effects.

**Key Words:** Carbamate, carbaryl, crayfish, *Astacus leptodactylus*, superoxide dismutase, catalase, glutathion peroxidase

**Conflict of interest:** Authors declare no conflict of interest.

## Giriş

Günümüzde tarımda birim alandan daha fazla ürün almak ve çeşitli zararlılarla mücadele etmek amacıyla kullanılan pestisitlerin, yararlı mı yoksa zararlı mı olduğu hala tartışılan bir gerçektir. Birçok ülkede konvansiyonel tarım, yerini organik tarıma bırakmış ve Avrupa ülkeleri başta olmak üzere organik ürünler piyasalarında daha fazla rağbet görmeye başlamıştır. Ancak ülkemizde halen pestisit uygulamaları, denetimsiz bir şekilde devam etmektedir. Sentetik piretroidler ve karbamatlı pestisitler sıklıkla, insanlar için zararlı olan emici ve çığneyici ağza sahip zararlıların kontrolünde kullanılmaktadır. Pestisitler yağmur suları, drenaj suları, yüzey akışları ve sulama sularına karışarak topraktan emilebilmekte ve sucul ekosistemlere bulaşabilmektedir.

Avrupa'da Türk tatlı su istakozu olarak da bilinen *Astacus leptodactylus*, ülkemiz doğal sularında bulunan tek tatlı su istakozu türüdür. İntensif, yarı-intensif ve ekstansif yetiştiriciliği yapılabilen bu türün ülkemizde bulunan göllerin çoğunda saptandığı bilinmekte olup, çoğunlukla avcılık yoluyla elde edilmektedir [1]. 1984 yılına kadar en önemli ihraç ürünlerimiz arasında yer alan tatlı su istakozlarının, o dönemde çıkan ve etkeni *Aphanomyces astaci* [2] olan mantar hastalığından dolayı toplu ölümler sonucu soyları tükenmeye yüz tutmuştur [3]. Bu nedenlerle ülkemizde ve dünyada, tatlı su istakozu türümüz üzerinde yapılan çalışmalar daha çok yetiştiricilik olanakları ve istakoz vebası başta olmak üzere hastalıklarının incelenmesi üzerine olmuştur. Günümüzde göller gibi birçok su kaynağımızda kendisini yenilemiş olan tatlı su istakozları, yine ülkemiz için üretimi ve ihracatı yapılabilecek potansiyel türler arasında yer almakta ve ekonomik öneme sahiptir. Ancak günümüzde su kirliliğinin artması, ülkemiz göllerinin özellikle birinci derecede tarımsal uygulamalardan, ikinci derecede de veteriner-hayvancılık ve sıtma savaşı gibi sağlıkla ilgili zararlı mücadelesi uygulamalarından kaynaklanan kirlilik düzeylerinin artması, suda yaşayan (sucul habitatlarda), hedef olmayan canlılar üzerine potansiyel olumsuz etkiler konusunda endişe duyulmasını gündeme taşımıştır. Tatlı su istakozu dipte beslenmesi, besin zincirindeki önemi, EPA ve OECD gibi uluslararası kuruluşlar tarafından standart test organizması olması yönüyle ekotoksikolojik araştırmalarda tercih edilmiştir.

Suda pestisit uygulamalarında, hedef olmayan organizmalar grubunda olan ve insektisitlerden en çok etkilenen akuatik invertebratlar üzerinde çalışmalar literatürde çok sınırlıdır. Mevcut çalışmalar daha çok akut toksik etki ve LC50 değerlerinin belirlenmesi üzerinedir [4]. Karbamat grubu pestisitler etkisini asetil kolinesteraz enziminin inhibisyonu ile gösterir. Böceğin sinir sistemini hızla paraliz ettiğinden "knockdown" etkili olarak tasnif edilir. Kolinesteraz inhibisyonu, kısa süreli ve geri dönüşebilir tiptir. Tatlı su istakozu türümüz üzerinde akut mortalite haricinde, antioksidan etkilerini içeren çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, sucul ekosisteme toksik kirletici olarak

bulaşan karbamatlı pestisit karbarilin, tatlı su istakozları (*Astacus leptodactylus* Esch.) hepatopankreas, kas ve solungaç dokularında antioksidan enzim düzeyleri üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

### *Tatlı su istakozlarının temini ve adaptasyonu*

Tatlı su istakozları *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz,1823) intermoult döneminde ve av sezonunda balıkçılardan temin edildi. Kullanılan tatlı su istakozlarının ortalama boyu 10.74 ±0.84 cm, ağırlığı 32.78 ±7.12 g'dır. Tatlı su istakozları deneye başlanmadan önce bir ay akvaryumda adaptasyon dönemine tabi tutuldu. Bu dönemde tatlı su istakozları, dinlendirilmiş çeşme suyu bulunan akvaryumlarda stoklandı. Günlük olarak taze balıkla beslendiler ve akvaryumları sürekli havalandırıldı. Akvaryum su kalitesine ilişkin parametreler; sıcaklık (21 °C), pH = 7.52, DO (Çözünmüş oksijen, 6.6 mg/L), iletkenlik (0.268 mS/cm), amonyak (0.001 mg/L)'dir.

### *Deneme yöntemi*

Tüm deneyler Zehirlik Seyreltme Faktörü tayin metoduna göre yapıldı [5]. Ayrıca metoda detay olarak APHA, ISO, FAO ve TSE'nin metodlarından da yararlanıldı [6-10]. Denemelerde, yarı statik biyodene yöntemini kullanıldı [6]. Önce ön deneyler yapılarak subletal konsantrasyonlar belirlendi ve tespit edilen doz asıl denemelerde kullanıldı.

### *Pestisit çözeltilerinin hazırlanması*

Deneylerde kullanılan karbaril (201.23 g/mol., suda çözünürlük; 40 mg/L, 30 °C, CAS kimyasal ad; 1-naphthalenylmethylcarbamate [9CI], CAS Kayıt numarası [63-25-2]), Hacettepe Üniversitesi İnsektisit Test Ünitesinden temin edilmiştir. Karbaril stok çözeltilerini hazırlamak için, katı haldeki insektisit tartılarak; volumetrik cam balon jodede belirli hacime analitik saflıkta aseton ile tamamlanarak elde edildi. Stok ve doz çözeltileri kullanılabilecek kadar +4°C'de muhafaza edildi. Kullanım öncesinde ortam sıcaklığına getirilerek deney akvaryumlarına uygulandı.

### *Deneyin Gerçekleştirilmesi*

*Astacus leptodactylus*'ta 241 (175-291) µg/L olarak saptanan 96 saatlik LC50 değerinin 1/10'u olan değer, subletal doz olarak belirlendi. Bu bağlamda karbaril için 25 µg/L kullanıldı. Tatlı su istakozları 48 saat ve 7 gün süresince bu doza maruz bırakıldı [11]. İki tekrarlı yürütülen deneyde toplam 128 adet tatlı su istakozu kullanıldı ve 8 adet akvaryuma 16'şar tatlı su istakozu olarak stoklandı.

Sudaki insektisit konsantrasyonunun sabit kalması için deney ortamı 48 saat aralıklarla yenilendi. Ayrıca çözücü olarak kullanılan asetonun bulunduğu ve hiçbir kimyasal maddenin katılmadığı iki farklı kontrol grubu kullanıldı.

Deney süresi tamamlandığında, buz anestezisi kullanılarak solungaç, hepatopankreas ve kas dokuları diseksiyon yapılarak çıkarıldı ve sıvı azotta donduruldu. Daha sonra analiz yapılmaya kadar -80 °C'de saklandı.

## Doku Analizleri

### Süperoksit dismutaz enzim tayini (SOD)

Yöntemin esası, ortamda oluşturulan süperoksitin, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile ortadan kaldırılması ve kalan miktarın boyanarak renklenmesine dayanan ksantin ksantin oksidaz (XO) ile O<sub>2</sub>- oluşturması ve bunun da NBT ile renkli bir bileşik oluşturarak bu renk şiddetinin spektrofotometrik olarak ölçülmesidir. Doku enzim miktarı, Cayman SOD kiti kullanılarak tayin edildi ve sonuçlar U/mg protein olarak verildi [12].

### Katalaz enzim tayini (KAT)

Yöntem hidrojen peroksitin yıkımı esasına dayanmaktadır. Doku enzim miktarı, Cayman KAT kiti kullanılarak tayin edildi [13].

### Glutatyon peroksidaz enzim tayini (GPx)

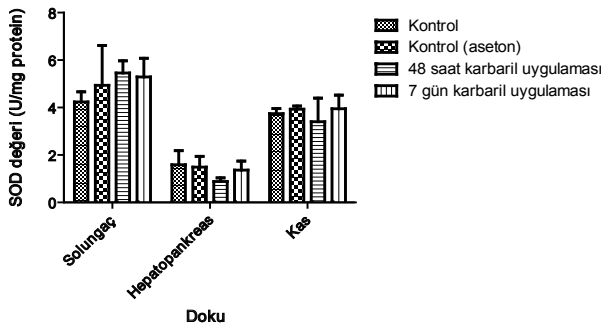
Bu çift enzim yöntemi, GPx ile hidrojen peroksitin (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) reduksiyonunu ve glutatyon redüktaz ile NADPH'nin NADP'ye oksidasyonuna dayanmaktadır. Enzim aktivitesi 37°C'da NADPH'nin NADP'ye oksidasyonu sonucunda reaksiyon içeriğinin optik dansitesinde azalma olması ile belirlenir. Ticari kitlerde, glutatyon redüktaz ile çift reaksiyona giren GPx aktivitesi indirekt olarak ölçülmüştür. Doku enzim miktarı, Cayman GPx kiti kullanılarak tayin edildi [14, 15].

### Doku Protein Tayini

Doku protein tayini ise Lowry ve ark. (1955) tanımladığı metotla spektrofotometrik olarak yapıldı. Bu yöntem alkali ortamda proteinlerin peptid bağlarının bakır iyonları ile kompleks oluşturması esasına dayanır. Bakır-peptid kompleksleri, folin ayırıcı ile reaksiyona girerek mavi—mor renk oluşturur ve 750 nm'de köre karşı spektrofotometrede okunur [16].

### İstatistik Değerlendirme

Veriler, GRAPHPAD InStat 3 programında, Mann-Whitney U ve Kruskal Wallis non-parametrik yöntemleri kullanılarak ve önem seviyesi 0.05 olarak analiz edildi.



Şekil 1. Karbarile, 48 saat ve 7 gün maruz kalan tatlı su istakozlarında farklı dokulara ait SOD(U/mg protein) değerleri.

## Bulgular

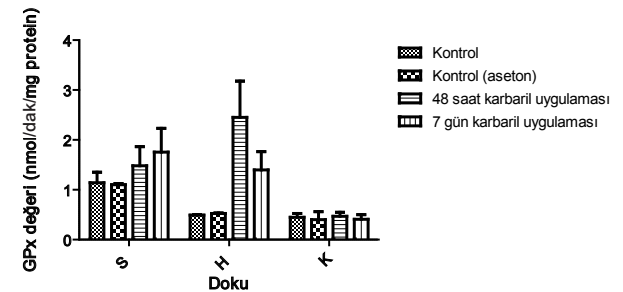
Karbamatlı pestisitlerden karbarile 48 saat ve 7 gün süreyle subletal dozda maruz kalan tatlı su istakozlarında, solungaç dokusu SOD (U/mg protein) değerlerinde kontrol grupları ile karşılaştırıldığında artış görüldü (p <0.05). Hepatopankreas SOD değerlerinin, her iki kontrol grubuna göre 48. saat (p <0.05) ve 7. günde azaldığı belirlendi. Kas dokusunda ise her iki zaman dilimine ait bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 1).

Karbarile 48 saat ve 7 gün maruziyetten sonra solungaç, hepatopankreas ve kas dokularına ait KAT (nmol/dak/mg protein) değerleri Tablo 1'de verildi. Solungaç dokusunda her iki kontrol ile karşılaştırmada, istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi. Karbarile 48 saat süreyle maruz kalan tatlı su istakozlarının hepatopankreas KAT değerlerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p <0.05). Kas KAT enzim aktivitesinde her iki zaman aralığında kontrol gruplarına göre fark bulunmadı.

Solungaç, hepatopankreas ve kas dokularına ait her iki zaman aralığındaki GPx değerleri Şekil 2'de verildi. Karbarile 48 saat ve 7 gün süreyle maruz kalan tatlı su istakozlarının solungaç ve hepatopankreas GPx değerleri kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı arttı (p <0.05). Ayrıca karbarile maruz kalan tatlı su istakozlarının hepatopankreas GPx değerleri maruziyet süresinden de etkilendi (p <0.05). Kas GPx değerleri kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermedi.

## Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada karbamat grubu pestisitlerden karbarilin subletal konsantrasyonunun tatlı su istakozu (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz 1823) 'nun antioksidan enzim düzeyleri üzerine etkileri incelendi. Karbaril, dünyada ve ülkemizde tarımsal zararlı mücadelesinde yaygın kullanılan nörotoksinlerdendir. Suların tarımsal faaliyetler sonucu kirlendiği göz önünü alındığında, çalışma güncel değer taşımakta ve ayrıca hedef olmayan canlı grubuna giren ülkemiz tatlı su istakozu türü *Astacus leptodactylus* üzerinde toksik madde maruziyeti sonucu enzimlere etkisinin incelenmesi yönüyle özgün değer taşımaktadır.



Şekil 2. 48 saat ve 7 gün Karbarile maruz kalım sonrası GPx değerlerine ait veriler. (S:solungaç, H;hepatopankreas, K:kas)

**Tablo 1.** 48 saat ve 7 gün karbarile maruz kalan tatlı su istakozu farklı dokularda KAT (nmol/dak/mg protein) değerleri ( n=6)

Doku	Kontrol	Kontrol (aseton)	48 saat Karbaril	7 gün Karbaril
Solungaç	0.057±0.027	0.047±0.007	0.054±0.005	0.064±0.008
Hepatopankreas	0.072±0.017	0.082±0.003	0.102±0.011a	0.083±0.017
Kas	0.022±0.008	0.023±0.003	0.021±0.005	0.021±0.002

a p<0.05, her iki kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

Karbarilin düşük konsantrasyonlarda dahi enzimleri etkilediği görülmüş ve sucul ekosisteme bu maddenin düşük düzeyde kontaminasyonundan bile korunulması gerektiği sonucu ortaya çıkmıştır. Hesaplanan akümülyasyon faktörü, sudaki konsantrasyonun dokuz katıdır. Suda hidroliz yarı ömrü, sıcaklık, pH ve başlangıç konsantrasyonuna bağlı olmakla birlikte; birkaç dakikadan birkaç haftaya kadar değişmektedir. Ana yıkım ürünü ise 1-naftol'dür. Diğer sucul canlılardan balık için 96 saatlik akut LC50 değerleri: iri kepeniz balığı (*Leuciscus idus*) için 12 mg/L; gökkuşuğu alabalığı (*Salmo gairdneri*) için 4-14 mg/L; mavi yüzgeç güneş balığı (*Lepomis macrochirus*) için 6.6 mg/L; medaka (*Oryzias latipes*) için 10-40 mg/L; pullu sazan (*Cyprinus carpio*) için 10-40 mg/L olarak bildirilmiştir [17].

Karbaril, endokrin sistemde gelişme döneminde olumsuz etkiler göstermekte ve üreme sisteminde artan problemler ancak maturasyondan sonra izlenebilmektedir. Farklı şekillerde maruziyet, toksikolojik tanımlamalarda şüpheli endokrin bozucu etki ile açıklanmaya çalışılmaktadır [18, 19]. Diğer bir çalışmada da sub-letal karbaril dozlarının (2.0, 5.0 ve 8.0 mg/L) tatlı su salyangozu *Lymnaea acuminata*'da üreme sisteminde yetersizliklere neden olduğu görülmüştür [20].

Çalışma sonucunda, tatlı su istakozu gibi omurgasız su canlılarının da, toksikoloji çalışmalarında enzim etkilerinin incelenmesi açısından çok iyi bir model olduğu ve insan sağlığına potansiyel etki gösterebilecek karbaril konusunda daha dikkatli olunması gerektiği uyarıldı. Ülkemiz tatlı su istakozu türü *A. leptodactylus* için bu konuda yapılabilecek ilerideki çalışmalara temel sağlayacak veriler elde edildi. Ülkemizin endemik türünün ekotoksikoloji çalışmalarında model organizma olarak kullanılabilmesi kanısındayız.

Antioksidan moleküller, endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirirler. Hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler, asıl antioksidan savunmayı sağlamaktadır. Bu enzimler süperoksit dismutaz, glutatyon-S-transferaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, katalaz ve sitokrom oksidazdır [21].

Çalışmamızda 48 saat ve 7 gün süre ile 25 µg/L karbarile maruz kalan tatlı su istakozlarının kas dokularında SOD, KAT, GPx antioksidan enzim düzeylerinde farklılık gözlenmedi. Kullanılan subletal karbamat dozunun akut/hızlı etki göstererek öncelikle solungaç ve hepato-

pankreasda etkili olması toksik etkinin doku özgüllüğü taşıyabileceğini ve zamana bağlı etkide farklılık oluşabileceğini düşündürmektedir. Solungaç SOD düzeyleri her iki zaman aralığında da kontrol grubuna göre azalırken, hepatopankreas da SOD düzeylerinin sadece 48. saatte azaldığı gözlemlendi. Bu sonuçları destekleyebilecek şekilde, solungaç KAT aktivitesinde 48. saatte ve 7. günde kontrol gruplarına göre bir değişiklik gözlenmezken hepatopankreas KAT aktivitesinde 48. saatte artma gözlemlendi. Süperoksit dismutazın, süperoksit radikalleri uzaklaştırmada ilk basamakta rol oynayan spesifik bir sitozolik enzim olduğu, oksidatif reaksiyonlarda ve fagositozu takiben oluşan doku hasarında koruma mekanizmasında yer aldığı bilinmektedir. Balıklarda da doku SOD enzim tayini, stres değerlendirmesinde yaygın kullanılan analiz yöntemlerindedir. Ancak krustaselerde, oksidatif stresle ilişkili SOD çalışmaları çok sınırlıdır [22]. Çalışmamıza benzer verileri olan Borkovic ve ark.'larının [23] yaptığı çalışmada, Don nehrinde yaşayan *Orconectes limosus*'larda hepatopankreas SOD enzim düzeyi solungaç ve kas doku SOD düzeyleri ile kıyaslandığında daha düşük düzeylerde bulunmuştur. Çalışma bulgularımıza uyumlu olarak Fernandez ve ark.'larında [24] *Procambarus clarkii*'lerde karbaril maruziyeti sonrasında hepatopankreas KAT aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda solungaç ve hepatopankreas GPx değerleri kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı artış gösterirken aynı zamanda 48. saat ve 7. gün arasında da farklılıklar gözlemlendi. En yüksek etkinin 48. saatte olduğu belirlendi. Bulgularımıza benzer sonuçlar Fernandez ve ark.'larının [24] çalışmasında da görülmektedir. *Procambarus clarkii*'de karbaril maruziyeti sonrasında hepatopankreas GPx aktivitesinin kontrole göre arttığı gözlenmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Görüldüğü gibi krustaselerde yapılan çalışmalar literatürde çok sınırlıdır. Bir diğer çalışmamızda da tatlı su istakozlarına farklı dozlarda fenitrothion uygulaması sonrasında, lipid peroksidasyon ürünlerinin düzeylerinde kas ve solungaç gibi dokularda değişiklik olmadığı; hepatopankreasda ürünlerin azaldığı rapor edildi ki bu da bize antioksidan sistemlerin etkin olduğunu göstermektedir [25]. Çalışmada seçilen karbaril, ülkemizde ve dünyada yoğun kullanılan insektisittir. Bu bağlamda çevrenin korunması ve potansiyel insan sağlığı etkileri yönleri de göz önüne alındığında pestisitlerin denetimlerinin iyi yapılması ve çok düşük düzeylerde bile su ünitelerine

ulaşımının engellenmesi, organizmada dokuya özgül hızlı metabolik etki göstereceği düşünöldüğünden gerekli idari ve yasal tedbirlerin alınmasını önermekteyiz.

## Bilgi ve Teřekkür

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 18/2010-01 kodlu proje olarak desteklenmiştir.

**Çıkar çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması olmadığı bildirilmiştir.

## Referanslar

- [1] Köksal G. (1988) *Astacus leptodactylus* in Europe. In: Freshwater Crayfish: Biology, Management and Exploitation, s. 365–400, Croom Helm Press, London.
- [2] Rahe R, Soylu E. (1989) Identification of the pathogenic fungus causing destruction to Turkish crayfish stocks (*Astacus leptodactylus*). J. Invertebr. Pathol. 54:10-15.
- [3] Harlıođlu MM. (2004) The present situation of freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) in Turkey. Aquaculture 230:181–187.
- [4] Karasu Benli Ç, Sarıkaya R, Sepici-Dinçel A, Selvi M, Sahin D, Erkoç F. (2007) Investigation of acute toxicity of (2,4-dichlorophenoxy) acetic acid (2,4-D) herbicide on crayfish (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823). Pestic. Biochem. Phys. 88:296-299.
- [5] Anonim (1991) Türkiye Cumhuriyeti Resmî Gazete, Su kirliliği ve kontrolü yönetmeliği numune alma ve analiz metodları tebliği, zehirlilik seyreltme faktörü (ZSF) tayini, Sayı: 20106
- [6] Anonymous (1975) APHA (American Public Health Association): Standard methods for the examination of water and wastewater, s 1-1134, 14th Edition Washington DC, USA.
- [7] Reish DL, Oshida PS. (1987) Manual of methods in aquatic environment research. Part 10. Short-term static bioassays. FAO Fish Tech. Pap. 247:17-33.
- [8] Anonim (1989) Su kalitesi- Tatlı su balığına ani öldürücü zehir tesiri olan maddelerin tayini- Kısım 2- Yarı-statik metod. TS 6021. Ankara.
- [9] Anonim (1990) Endüstriyel sıvı atıklar ve atıksular-Akut zehirlilik deneyleri-Canlılık deney metodları. TS 8264.
- [10] ISO (1996). Water quality, determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish. Static method. ISO 7346-2. 1-11.
- [11] Spague JB. (1971) Measurement of pollutant toxicity to fish: III. Sublethal effects and safe concentrations. Water Res. 5:245–266.
- [12] Sun Y, Oberley LW, Li Y. (1988) A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clin. Chem. 34 (3):497-500.
- [13] Johansson LH, Borg LAH. (1988) A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. Anal. Biochem. 174:331-336.
- [14] Paglia DE, Valentine WN. (1967) Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte GPx. J. Lab. Clin. Invest. 70 (1):158-169.
- [15] Ursini F, Maiorino M, Gregolin C. (1985) The selenoenzyme phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. Biochim. Biophys. Acta. 839 (1):62-70.
- [16] Lowry OH. (1951) Protein measurement with the folin reagent. J. Biol. Chem. 193:265-275.
- [17] De Mel GWJLMVTM, Pathiratne A. (2005) Toxicity assessment of insecticides commonly used in rice pest management to the fry of common carp, *Cyprinus carpio*, a food fish culturable in rice fields. J. Appl. Ichthyol. 21 (2):146-150.
- [18] Durkin PR, Diamond G. (2002) Neurotoxicity, immunotoxicity and endocrine disruption with specific commentary on glyphosate, triclopyr, and hexazinone. Final Report. SERA TR01-43-08-04dated January 30, Available at www.fs.fed.us/foresthealth/pesticide/risk.htm.
- [19] Durkin PR, King C. (2008) Carbaryl, human health and ecological risk assessment revised final report. SERA TR-052-01-05a.
- [20] Tripathi PK, Singh A. (2004) Carbaryl induced alterations in the reproduction and metabolism of freshwater snail *Lymnaea acuminata*. Pestic. Biochem. Phys. 79:1–9.
- [21] Halliwell B. (1995) Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. Biochem. Pharmacol. 49 (10):1341-1348.
- [22] Bell KL, Smith VJ. (1993) In vitro superoxide production by hyaline cells of the shore crab *Carcinus maenas* (L.). Dev. Comp. Immunol. 17:211 –219.
- [23] Borkovic SS, Pavlovic SZ, Kovacevic TB, Stajin AS, Petrovic VM, Saicic ZS. (2008) Antioxidant defence enzyme activities in hepatopancreas, gills and muscle of Spiny cheek crayfish (*Orconectes limosus*) from the River Danube. Comp. Biochem. Phys.–C, 147 (1):122-128.
- [24] Vioque-Fernández A, de Almeida EA, López-Barea J. (2009) Biochemical and proteomic effects in *Procambarus clarkii* after chlorpyrifos or carbaryl exposure under sublethal conditions. Biomarkers 14 (5):299-310.
- [25] Sarıkaya R, Sepici-Dinçel A, Karasu Benli AC, Selvi M, Erkoç F. (2011) The acute toxicity of fenitrothion on narrow-clawed crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) in association with biomarkers of lipid peroxidation. J. Biochem. Mol. Toxicol. 25 (3):169-174.