



Araştırma Makalesi/Research Article

Çevresel Kirletici Sodyum Omadin' in Zebra Balıklarında (*Danio Rerio*) Katalaz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi

Determination of the Effects of Environmental Pollutant Sodium Omadin on Catalase Enzyme Activity in Zebra Fish (*Danio Rerio*)

İlknur Yılmaz Sezer¹, Rabia Tural^{2,4}, Aysel Çağlan Günel^{3*}, Aylin Sepici Dinçel⁴

¹Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Bilimleri Ana Bilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Sinop Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Sinop, Türkiye

³Gazi Üniversitesi Eğitim Fakültesi, Biyoloji Eğitimi Ana Bilim Dalı, Ankara, Türkiye

⁴Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı, Ankara, Türkiye

Öz

Amaç: Son yıllarda dünyadaki aşırı üretim ve tüketim faaliyetlerinin en çarpıcı sonuçlarından biri çevresel kirleticilerin sayısındaki hızlı artış ve bu artışın insan ve diğer canlıların sağlığını tehdit etmesidir. Bu çalışmada bakteri ve mantarlara karşı yaygın olarak kullanılan çevresel kirletici sodyum omadin (NaOM)'e maruz bırakılan zebra balıklarında antioksidan enzim olan katalaz aktivitesindeki değişikliklerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Üreticisinden temin edilen 56 adet (dişi/erkek eşit dağılım) zebra balığı deneyden 15 gün önce deney ortamına adaptasyonunun sağlanması için 6 adet deney akvaryumuna (10x20x3) yerleştirilmiştir. Deney 24, 72 ve 96 saat olarak 1 ug/L ve 5 ug/L dozlarında NaOM'a maruz bırakılma şeklinde planlanmıştır. Antioksidan enzim aktivitesi katalaz (CAT, µM formaldehit/100 mg doku) EIA kit'i ile tespit edilmiştir. Analiz sonuçları SPSS programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Gruplar arasındaki doku katalaz enzim aktivitesi düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık zamana ve doza bağımlı olarak saptanmıştır (p<0.05).

Sonuç: Çevresel kirleticilerden olan biyosidal ürünler özellikle hedef olmayan canlılarda süreye bağlı antioksidan enzim aktivitelerini değiştirmektedir. Deniz kirliliği ve ekosistemlerin bozulması, insanları doğrudan etkilemekte olup çalışmanın sonuçları çevre kirliliği, deniz kirliliği ve sağlık sorunları arasında farkındalık sunmaktadır.

Anahtar kelimeler: Antioksidan sistem, çevresel kirletici, katalaz enzim aktivitesi, sodyum omadin, zebra balığı.

Abstract

Objective: In recent years one of the most striking results of over-population and consumption activities in the world is the rapid increase in the number of environmental pollutants. Environmental pollutants, one of the harmful consequences of technological and modern life, threaten the health of people and other living things. It was aimed to determine the effects of sodium omadine on catalase enzyme activities in zebrafish, an environmental pollutant commonly used against bacteria and fungi.



Materials and Methods: 56 (female/male equal distribution) zebrafish, obtained from the aquarium fish producer, were stocked in 6 experimental aquariums (10x20x3) to ensure their adaptation period to the experimental conditions 15 days before the experiment. The fish were exposed to 1 ug/L and 5 ug/L concentrations of NaOM for 24, 72 and 96 hours. Antioxidant enzyme activity was measured by catalase (CAT, µM formaldehyde/100 mg tissue) EIA kit. The results were analyzed using SPSS program.

Results: There was a statistically significant difference between the tissue catalase enzyme activity levels depending on time and doses between the groups (p<0.05).

Conclusion: Biocidal products, which are among the environmental pollutants, have been found to have effects on time-dependent antioxidant levels, especially in non-target organisms. Marine pollution and the degradation of ecosystems directly affect people, and the results of the study raise awareness of environmental pollution, marine pollution and health problems.

Keywords: Antioxidant system, Environmental Pollutant, Catalase Enzyme Activity, Sodium omadine, Zebra fish.

İletişim adresi/Address for Correspondence:

Aysel Çağlan Günel  <http://orcid.org/0000-0002-9072-543X>
Gazi Üniversitesi Eğitim Fakültesi, Biyoloji Eğitimi Ana Bilim Dalı, Ankara, Türkiye
E-mail: caglangunal@gmail.com
Telefon:+905064190070
Aylin Sepici Dinçel  <http://orcid.org/0000-0001-5847-0556>

Giriş

Çevre, canlıların yaşamları boyunca birbirleriyle etkileşim içinde oldukları sosyal, fiziksel, kültürel, biyolojik ve ekonomik ortamdır aynı zamanda ekosistem olarak da tanımlanabilmektedir. Yaşamış olduğumuz yüzyıl içerisinde doğal kaynakların düzensiz ve aşırı tüketiminden kaynaklı çevre tahribatları insanlarla birlikte tüm canlıları tehdit etmektedir¹. Nüfusun artması, kentlerin gün geçtikçe daha da kalabalıklaşması enerji, gıda ve diğer ihtiyaçları karşılayabilmek için doğal kaynakların aşırı tüketimi doğanın da dengesini bozmuştur. İlk defa 1869 yılında ortaya çıkan bu kavram Massachusetts (ABD) Halk Sağlığı Komitesince incelenmiş ve bu durumu özetleyen bir bildiri yayınlanmıştır. Bildiri metninde her insanın temiz havaya, suya ve toprağa ihtiyacı olduğu bunların kirletilmemesi gerektiği vurgulanmıştır².

İlk insanlar zamanlarının çoğunu hayatta kalabilmek amacıyla yiyecek ve barınak temini için harcamıştır. Çiftçilik ve hayvancılığın geliştiği çağlarda insanoğlu zamanının tamamını temel ihtiyaçlar için harcamak yerine önemli bir kısmını uzmanlaşmaya ayırmıştır. Çeşitli mesleklerin ortaya çıkışı ve iş bölümü olarak devam eden bu süreçte insanlar daha iyi yaşam koşullarına ulaşmaya başlamıştır. Kişi başına tüketimin ve nüfusun artması ise çevre tahribatına yol açmıştır³. Ancak sürekli artan nüfus karşısında yalnızca talebi karşılayabilmek adına bilhassa sanayi devrimi ile birlikte ilk defa adından söz ettirmeye başlayan bir çevre kirliliği kavramı ile tanışmıştır. Çevre sorunlarının artması ve hızlı büyüyen nüfusun bu artan sorunlarla karşı karşıya kalmaları çevre kirliliği kavramının oluşmasında oldukça etkilidir. Doğrudan ya da dolaylı yollarla çevreye bırakılan, insan sağlığını etkileyen ve ekolojik denge üzerinde zararlı etkileri olan bu kirlenici maddelere endüstriyel atıklar, kentsel atıklar, zirai ilaçlar, fosil yakıt türleri vs. örnek verilebilir⁴.

Biyosit canlı öldüren anlamına gelmektedir, biyosidal maddeler ise içerdikleri aktif madde ya da maddeler sayesinde zararlı olarak kabul edilen mantar, su yosunu, bakteri, küf veya maya içeren mikroorganizmaları kontrol edici veya öldürücü etkisi olan kimyasal maddelerdir. Örnek olarak insektisitler (böceklere karşı),

herbisitler (yabani otlara karşı), fungusitler (mantarlara karşı), akarisitler (uyuz böcekleri ve parazitlere karşı), rodentisitler (kemiricilere karşı) ve mollusitler (yumuşakçalara karşı) verilebilir⁵.

Sodyum omadin (NaOM), bakteri ve/veya mantar üremesi yoluyla bozulabilen imalat malzemelerinde koruyucu olarak ve proses sıvılarda katkı maddesi olarak kullanılan geniş spektrumlu bir antimikrobiyal bileşiktir. Metal işleme sıvılarında (konsantre olarak %0.5'e kadar sıkıcı ve kesme yağları), lastik, boya endüstrisi (dispersiyon boya, %0.05-%0.2), şampuanlar ve yıkama losyonları gibi durulanan kozmetiklerde, %0.5 konsantrasyonlarında bulunmaktadır. NaOM suda çözünür biyosidal odun koruyucudur aynı zamanda mikroorganizmalar için yaygın olarak kullanılan bir çözücü ve biyositir⁶.

Denizde yaşayan canlıların gemi, petrol kulesi gibi araç ve gereçlerin üzerinde topluluklar oluşturduğu bilinmektedir. Canlıların bir yüzeyde birikmesiyle sıvı temasını kesebilecek kadar yoğun kolonileşme ile sonuçlanabilen bir süreçtir. Su ortamında kullanılan birçok araç bir süre sonra sucül organizmalar tarafından bir habitat olarak kabul edilir ve bu duruma biyofouling adı verilmektedir. Bu durum deniz taşıtları ve diğer benzer araçlar için problem oluşturduğundan belirli dönemlerde bu canlıların arındırılması (antifouling) gerekmektedir. Bu temizleme işlemi için biyosit içerikli antifouling boyalar daha çok tercih edilmektedir. 1950'li yılların sonunda kullanılmaya başlanan tiribültinin (TBT) ciddi zararları olduğu dile getirilmiş ve kullanımına sınırlamalar getirilmiştir.

Kullanılan kimyasalların, bir hastalık kaynağı olabilme ihtimali ve bu hastalıkların canlılar üzerindeki etkileri gibi konular, çevresel kirlenicilerle ilgili çalışmalara ağırlık verilmesine sebep olmuştur. Çevresel kirleniciler özellikle hedef olmayan canlılarda erken gelişme dönemlerini etkileyerek toksisite göstermektedir. Antioksidanlar ise serbest radikallerin fonksiyonlarını engelleyen veya sınırlandıran ve hücre hasarı erteleyen ya da önleyen moleküller olarak tanımlanmaktadır^{7,8}. Aktivitelerine göre enzimatik ve enzimatik olmayanlar olarak iki gruba ayrılmaktadır. Enzimatik antioksidanlar süperoksit dismutaz

(SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon-S-transferazlar (GST), glutatyon redüktaz (GR) ve mitokondrial sitokrom oksidazlar, nonenzimatiklere ise vitamin C, vitamin E, transferrin, koenzim Q10 ve glutatyon (GSH) olarak bilinmektedir. Katalaz, glikoprotein yapıda bir hemoprotein olup, hidrojen peroksite yüksek yoğunlukta olduğu durumlar da yüksek aktivite gösterir. Hidrojen peroksiti su ve oksijene ayırıştırarak hücreyi oksidatif strese karşı korur²².

Zebra balığı (*Danio rerio*) doğal yaşamı Himalaya Bölgesi olan küçük bir tropikal tatlı su balığıdır. Genelde temiz, durgun ve bol oksijenli sulara yaşayıp gövdelerinde 7-9 adet mavi ve gümüş renkli çizgiler yer almaktadır. Su sıcaklığı açısından geniş bir yelpazede yaşayabilen Zebra balıkları 18-30°C aralığındaki sulara yaşamlarını sürdürebilmektedir. Üremeleri oldukça kolay olan Zebra balıklarının üreme için ideal sıcaklığı 26-28°C'dir⁹⁻¹¹. 1930'lu dönemlerden itibaren üzerinde çalışılan bir balık türü olup kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır. 1970 ve 1980'li yılların başlarında gelişim biyolojisi çalışmaları ile bilim dünyasına giriş yaparak günümüzde insan hastalıklarında model organizma olarak önem kazanmıştır^{12,13}. Aynı zamanda embriyolojik ve genetik olarak izlenebilen ideal bir omurgalı model olarak da tanımlanmaktadır. İnsanla yüksek genetik ve organ homolojisi göstermesi, embriyonun şeffaf olması nedeni ile dış ortamda gelişiminin izlenebilir olması, küçük boyutu, kısa gelişim ve üretim süresi, yüksek sayıda yumurta (200'ün üzerinde/dişi/hafta) üretimi ve düşük bakım masrafı gibi avantajları ile diğer klasik omurgalı modellerden ayrılmaktadır¹⁴.

Yapılan literatür taramasında sodyum omadinin su canlılarına etkilerine ilişkin çalışmaların oldukça sınırlı olduğu ve ekotoksikoloji çalışmalarda standart omurgalı sucül organizma olan zebra balıklarında ise çalışmaya rastlanmadığı görülmüştür. Bu çalışmada biyosidal ürünlerden sodyum omadinin katalaz enzim aktivitesi üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Deney Organizması ve Adaptasyonu

Bu çalışmada akvaryum üreticisinden temin edilen zebra balığı (*Danio rerio*) kullanılmıştır. Deney ortamına adaptasyonunun sağlanması için deney başlamadan 15 gün önce stok akvaryumuna alınan 56 adet (dişi/erkek eşit dağılım) zebra balığı 10x20x35 boyutlarındaki 6 adet deney akvaryumlarına yerleştirilmiştir. Balıkların boy ve ağırlıkları hassas terazi vasıtasıyla tartılarak, çalışmada 3-4.5 cm boylarındaki balıklar kullanılmıştır. Adaptasyon süresi esnasında balıklar günde vücut ağırlıklarının %2'si oranında uygun yemle beslenmiştir. Akvaryumlar sürekli havalandırılmış ve düzenli beslenme sağlanmıştır. Yem ve metabolizma atıklarının uzaklaştırılması için günlük sifonlamaları yapılmıştır.

Deney Kimyasalları

Sodyum omadin; suda çözünen bir madde olduğundan %40'lık NaOM hazır solüsyondan her birinde 10 L su bulunan akvaryumlardan, 2 akvaryuma 1µg/mL NaOM ve 2 akvaryuma ise 5µg/mL NaOM içerecek şekilde otomatik pipetle dozlama yapılmıştır.

Deney hayvanlarının hazırlanması

Her seçilen doz için 3 farklı zamanda (24, 72 ve 96 saatlerde) örnekleme yapılmıştır. Her zaman aralığı için 10 deney ve tüm deneyler için 6 balıktan oluşan tek kontrol grubu kullanılmıştır. İki farklı doz, üç farklı zaman ve tek kontrol örnekleme yapılması ile toplam 56 adet balık içeren akvaryumlarda deney ve kontrol grupları oluşturulmuştur. Bu çalışma 7 grup olarak planlanmış ve 6 akvaryumda çalışma balıkları eşit koşullarda stoklanmıştır. Popülasyonu yansıtmaları düşünülerek akvaryumlarda dişi ve erkek balık sayısı eşit tutulmuştur.

Deneyin Gerçekleştirilmesi

Balıkların bulunduğu oda 14 saat aydınlık, 10 saat karanlık olacak şekilde fotoperiyot kurularak balıkların yaşaması için uygun koşullar sağlanmıştır. Belli hacimli akvaryumlara, deneylerden önce, içinde yaklaşık 10 L dinlendirilmiş ve havalandırılmış

kaynak suyu konulup; akvaryumlar, hava motorları yardımıyla sürekli havalandırılmış ve termostatlı ısıtıcılarla su sıcaklığı $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de sabit tutulmaya çalışılmıştır. Akvaryum suyunda su kalitesi, suda çözülmüş oksijen, pH, iletkenlik, sertlik, sıcaklık ile amonyak, nitrit, nitrat konsantrasyonları alıştırma periyodunda 2 günde bir ölçülmüştür¹⁵. Çalışmada kullanılan suyun; pH'sı 7.2, çözülmüş oksijeni 5.4 mg/L ve iletkenliği de 75.7 $\mu\text{s}/\text{cm}$ (21°C) bulunmuştur.

Biyokimyasal Analizler

Gruplardaki balıklar kafası ve kuyrukları ayrılıp sıvı nitrojende dondurularak doku enzim çalışmalarına kadar -80°C de saklanmıştır. Tüm balık dokusundan antioksidan enzim tayin için doku miktarına bağlı olarak katalaz (CAT) enzim aktivite tayini yapıldı. Sonuçlar 100 mg doku başına verilmiştir.

Doku Analizi: Katalaz enzim aktivite tayini (CAT)

Yöntem, hidrojen peroksitin yıkımı esasına dayanmaktadır. Doku homojenizasyonunda dokunun gramı başına 5-10 ml soğuk tampon kullanılır. Tampon 50 mM potasyum fosfat, pH 7.0 ve 1 mM EDTA içermektedir. 10,000xg'de 15 dakika $+4^{\circ}\text{C}$ 'da santrifüj sonrası süpernatant alınır ve deneye kadar -80°C 'de saklanır [17]. Çalışma Cayman CAT Kiti (Ürün No: 707002) ile yapılmıştır.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz istatistiksel yazılım programı SPSS, Sürüm 8.0 (SPSS Inc., ABD) kullanılarak yapılmıştır. p değerleri <0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Tablo 1'de sunulan tüm değerler ortalama \pm S.E.M, Tablo 2'de ise ortalama \pm S.D olarak ifade edilmiştir. Test ve kontrol gruplarının ortalaması arasındaki farkın önemi Wilcoxon işaretli sıra testleri ve Mann-Whitney U-testi ile belirlenmiştir.

Bulgular

1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ NaOM ve 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ NaOM'a 24, 72 ve 96 saat süre ile maruz bırakılan deney gruplarındaki zebra balıklarına ait ortalama ağırlık ve boyları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1: Deneyde kullanılan zebra balıklarına ilişkin ortalama boy ve ağırlıklar ($X\pm\text{SEM}$)

No		Kontrol Grubu	24h (1 $\mu\text{g}/\text{L}$ NaOM)	24h (5 $\mu\text{g}/\text{L}$ NaOM)	72h (1 $\mu\text{g}/\text{L}$ NaOM)	72h (5 $\mu\text{g}/\text{L}$ NaOM)	96h (1 $\mu\text{g}/\text{L}$ NaOM)	96h (5 $\mu\text{g}/\text{L}$ NaOM)
1	Ağırlık(g)	0.550	0.633	0.447	0.566	0.507	0.443	0.585
	Boy(cm)	4.1	4.3	4.2	4.1	4.0	3.9	4.0
2	Ağırlık(g)	0.532	0.564	0.472	0.503	0.685	0.502	0.549
	Boy(cm)	3.9	4.1	4.1	3.9	4.3	3.8	4.1
3	Ağırlık(g)	0.585	0.447	0.468	0.551	0.526	0.379	0.546
	Boy(cm)	4.0	4.1	4.0	4.1	4.1	3.7	4.1
4	Ağırlık(g)	0.523	0.532	0.428	0.495	0.736	0.542	0.567
	Boy(cm)	4.0	4.0	3.8	3.8	4.5	4.1	4.2
5	Ağırlık(g)	0.485	0.551	0.633	0.504	0.5	0.522	0.637
	Boy(cm)	3.8	4.2	3.9	4.0	4.3	4.1	4.4
6	Ağırlık(g)	0.544	0.415	0.487	0.51	0.752	0.458	0.539
	Boy(cm)	4.2	3.7	3.7	3.9	4.3	4.1	4.2
7	Ağırlık(g)	0.629	0.582	0.54	0.545	0.602	0.373	0.545
	Boy(cm)	4.3	4.0	3.9	3.8	4.2	4.2	4.1
8	Ağırlık(g)	0.546	0.522	0.546	0.519	0.493	0.46	0.667
	Boy(cm)	4.0	3.9	3.8	4.0	4.1	4.2	4.0
i	Ağırlık(g)	0.549	0.531	0.503	0.524	0.600	0.532	0.570
	Boy(cm)	4.0	4.0	3.9	3.9	4.2	4.0	4.1

Deney hayvanlarından tüm vücut dokusunda ölçülen katalaz (CAT, μM formaldehit/100 mg doku) enzim aktivitesi ortalama değerleri ve standart sapmaları Tablo 2'de verilmektedir.

Tablo 2: 24, 72 ve 96 saat süre ile 1 ve 5 $\mu\text{g}/\text{L}$ NaOM'a maruz bırakılan zebra balıklarına ait katalaz (CAT, μM formaldehit/100 mg doku) antioksidan enzim aktivite ortalama değerleri

	Kontrol	1 $\mu\text{g}/\text{L}$ NaOM (24h)	5 $\mu\text{g}/\text{L}$ NaOM (24h)	1 $\mu\text{g}/\text{L}$ NaOM (72h)	5 $\mu\text{g}/\text{L}$ NaOM (72h)	1 $\mu\text{g}/\text{L}$ NaOM (96h)	5 $\mu\text{g}/\text{L}$ NaOM (96h)
	n=4	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6
Katalaz (μM formaldehit/100 mg doku)	8.297 \pm 1.830	63.787 \pm 9.273*	57.836 \pm 16.912*	55.139 \pm 24.865*	47.242 \pm 7.689*	49.302 \pm 6.136*	51.366 \pm 5.470*
* p<0.05 kontrol grubuna göre, ** p<0.05 24 saat 1 $\mu\text{g}/\text{L}$ NaOM grubuna göre, p<0.05							

Gruplar arasındaki CAT enzim aktivitesi konsantrasyonları kontrol grubu ortalama değeri 8.297 \pm 1.830 (μM formaldehit/100 mg doku) ile karşılaştırılmıştır. Bu değer 24. saat NaOM düşük doz CAT değeri ortalamasıyla (63.787 \pm 9.273 μM formaldehit/100 mg doku) ve yüksek doz CAT değeri ortalamasıyla (57.836 \pm 16.912 μM formaldehit/100 mg doku) karşılaştırıldığında deney gruplarında istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış saptanmıştır (p=0.011). 72. saat NaOM düşük doz CAT ortalama değeri (55.139 \pm 24.865 μM formaldehit/100 mg doku) ve yüksek doz CAT değeri ortalaması ile (47.242 \pm 7.689 μM formaldehit/100 mg doku) karşılaştırıldığında deney gruplarında istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır (p=0.011). Aynı şekilde 96. saat NaOM düşük doz CAT ortalama değeri

(49.302±6.136 µM formaldehit/100 mg doku) ve yüksek doz CAT ortalama değeri (51.869 ±5.470 µM formaldehit/100 mg doku) ile karşılaştırıldığında da deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır (p=0.011).

24. saat NaOM düşük doz CAT ortalama değeri (63.787±9.273 µM formaldehit/100 mg doku) 72. saat NaOM yüksek doz CAT ortalama değeri (47.242±7.689 µM formaldehit/100 mg doku) ile karşılaştırıldığında, 72. saatte istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanmıştır (p=0.010). Aynı şekilde bu değer, 96. saat NaOM düşük doz CAT ortalama değeri (49.302±6.136 µM formaldehit/100 mg doku) ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı düşük saptanmıştır (p= 0.006) ve 96. saat NaOM yüksek doz CAT ortalama değeri (51.869 ± 5.470 µM formaldehit/100 mg doku) ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanmıştır (p=0.016).

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada 1 ve 5 µg/mL konsantrasyonda NaOM'e farklı sürelerde maruz bırakılan zebra balıklarında CAT enzim düzeyleri tüm vücut dokusunda belirlenerek çevresel kirletici NaOM'in zebra balıklarında (*Danio rerio*) antioksidan sistem üzerine etkileri araştırılmıştır. Literatür incelenmesinde zebra balıklarında sodyum omadinin etkisinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak, sodyum omadin ile ilgili yapılan kısıtlı araştırmalar araştırmamızın sonuçlarını desteklemektedir.

Yıldırım ve ark. tarafından⁶ yapılan bir araştırmada ülkemizde ve dünyada kullanılan su ekosistemlerine ulaşan kirletici olarak tanımlanan sodyum omadin (NaOM, sodyum piritiyon) geniş spektrumlu bir antimikrobiyal koruyucu olarak belirtilmiştir. Ayrıca, bakteri ve mantar oluşumuna karşı kullanılan bir katkı maddesi ve biyosidal (çürümeyi önleyici) ajan olarak tanımlanmıştır. Çalışması tamamlanan madde, bazı türlerde gecikmiş nöropati üreten bir madde olarak da kabul edilir. Nöronların sodyum omadine maruz kalması, hücre içi pH'ı değiştirmemiştir. Moe ve ark., köpeklere 5, 10 ve 20 mg/kg dozlarında sodyum omadine damardan enjekte ederek geçici kızarıklık,

gözyaşı döküntüsü, belirgin dilatasyon ve görme güçsüzlüğü gözlemlemiştir²⁰. Olin Corporation 1988 sıçanlara, 5 mg/kg şeklinde deri yoluyla sodyum omadin enjekte ederek kas hasarı ve arka bacaklarda felç gözlemlemiştir²¹. Bu çalışmada, 1 ve 5 µg/mL NaOM'a 24, 72 ve 96 saat süre ile maruz kalan zebra balıklarının CAT değerleri ortalamaları, kontrol gruplarına göre istatistik olarak anlamlı şekilde arttığı saptanmıştır (p<0.05). Literatürde sodyum omadinin (piritiyon) katalaz aktivitesinin araştırıldığı çalışmaya rastlanmazken, Min ve ark.²² 10 gün süre ile 10 ve 50 µg/L çinko piritiyona maruz kalan pisi balıklarında katalaz aktivitesinin istatistik olarak önemli düzeyde arttığını bildirmişlerdir (p<0.05). Çalışmamızda 24. saat NaOM düşük doz CAT ortalama değeri, 72. saat NaOM yüksek doz ve 96. saat yüksek ve düşük doz CAT ortalama değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalma saptanmıştır (p<0.05). Ancak kontrol grubu değerlerinin üzerinde aktivite her zaman aralığında gözlenmiştir. Bu değerler, artmış antioksidan kapasitenin ilk 24 saatte korunduğunu, ancak maruziyetin devam etmesi ile azaldığını göstermektedir. Bulgularımıza benzer sonuçlar Günel ve ark.'ın²³ çalışmasında da görülmektedir. Karbarile maruz bırakılan tatlı su istakozlarının solungaç CAT aktivitesinde 48. saatte ve 7. günde kontrol gruplarına göre bir değişiklik gözlenmezken hepatopankreas CAT aktivitesinde 48. saatte artma gözlenmiştir²³. Benzer şekilde, Saousa ve Nunes²⁴ 48 saat süre ile 9.8 ve 19.2 µg/L çinko piritiyona maruz kalan *Daphnia magna*'larda katalaz enzim aktivesinin arttığını saptamışlardır.

Bu çalışmada kullanılan NaOM konsantrasyonlarına bağlı olarak tüm zaman aralıklarında antioksidan enzim olan katalaz miktarındaki artış ilk 24 saatte diğer zaman dilimlerine göre daha belirgin olarak saptanmıştır. Bu değerler madde konsantrasyonuna bağlı artmış 2. basamak antioksidan enzim sisteminin adaptasyonunu göstermektedir. Sonuç olarak subletal konsantrasyonlarda NaOM maruziyetin zebra balıklarında antioksidan sistem üzerinde değişken etkilere neden olarak, maruziyet süresinin devamı ile tamir mekanizmalarının etkin olabileceği düşünülmüştür. Normal

koşullarda anti oksidan enzimler radikal ortamda arttığında onu yok etmek için kullanılır ve azalır. Ancak bu çalışmada arttığı görülmekte olup, sucul canlılarda daha önce yapılmış ve toksik madde sonucu katalaz enzim aktivitesi artışı saptanmış diğer çalışmalarla da benzerlikler görülmektedir²²⁻²⁴.

Sonuç olarak, sucul ekosisteme, kimyasal bir madde girişinin, sucul canlılar üzerindeki etkisinin araştırılması son zamanlarda daha da bir önem kazanmıştır. Bu maddelerin sucul canlı organizmalarda moleküler düzeyde oluşturduğu değişimlerden başlayarak su dışı yaşama da etki ettiği göz önünde bulundurulup, araştırmaların özellikle ticari kaygılarla kullanılan kimyasallar üzerinde yoğunlaşmasını gerektirmektedir. Sodyum omadin, antifouling maddedir; canlılarda antibakteriyel ve antifungal etkiler için yaygın kullanılan bir biyosittir.

Bu çalışma ile sucul toksisitesi ve insanlar üzerine muhtemel olumsuz etkileri zebra türü balıklarda toksik maruziyet konsantrasyonunda, genotoksik ve antioksidan sistem üzerine etkilerinin araştırılarak bilime, korunma ve tedavi yöntemlerine katkı sağlanması amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında elde edilen veriler doğrultusunda NaOM'in uzun süreli veya yüksek dozlarda kullanımının, besin zinciri yoluyla insanlar ve hayvanlar üzerinde akut ve subakut toksik etkilerinin görülebileceği düşünülmüştür. Elde edilen bulgular NaOM ile ilgili sucul canlılarda yapılacak çalışmalara da zemin hazırlamıştır.

Etik Onay: Çalışmanın gerçekleştirildiği yılda gerekmemektedir.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemektedir.

Finansal Destek: Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birim tarafından 01/2017-31 nolu proje ile desteklenmiştir.

Ethical Approval: Not applicable

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Support: This study was supported by the Scientific Research Unit of Gazi University (Project number 01/2017-31).

KAYNAKLAR

1. Koca, Y. K. Termik Santralin Çevresel Kirlenme Etkisinin Toprak Kirlilik Yönetmelikleri Çerçevesinde Değerlendirilmesi.

1. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi, 2019;22, 149-154.
2. Gündüz, Turgut. Çevre sorunları. Ankara: Gazi Kitabevi, 1998.
3. Karpuzcu, M. Çevre Kirlenmesi ve Kontrolü. Boğaziçi Üni. Çevre Bilimleri Ens., III. Baskı, İstanbul,1991.
4. Yipel, M., & Yarsan, E. Güncel Endişe''Su Ürünlerinde Kirlilik''. Türk Veteriner Hekimleri Birliği Dergisi, 2012; 3-4.
5. De Martinis BS., De Lourdes Pires Bianchi M. Methodology for urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine analysis by hplc with electrochemical detection. Pharmacol Res, 2002;46 (2): 129-31 doi: 10.1016/s1043-6618(02)00080-4.
6. Yıldırım F., Yılmaz K., Uyar Z. ve Erkoç F. Investigation of Acute Toxicity of Sodium Omadine on Dreissena polymorpha (Zebra Mussel). TURJOEM , 2017;210 16
7. Dasgupta, S., Choyke, S., Ferguson, P.L., McElroy, A.E. Antioxidant responses and oxidative stress in sheephead minnow larvae exposed to Corexit 9500® or its component surfactant, DOSS. Aquatic Toxicology, 2018;194, 10-17. doi: 10.1016/j.aquatox.2017.10.010
8. Vaizoğlu SA. Pestisitler. Belediyecilik ve Halk Sağlığı Eğitim Araştırma Merkezi Pestisit Kullanım Kursu. Ankara: Ğ. Aygöl Ofset; 2005 p8-27
9. C.B. Kimmel, W.W. Ballard, S.R. Kimmel, B.Ullmann, T.F. Schilling, "Stages Of Embryonic- Development Of The Zebrafish", Developmental Dynamycs, 1995;203, 253- 310. 71.
10. Z. Lele, P.H. Krone, "The Zebrafish As A Model System In Developmental, Toxicological And Transgenic Research". Biotechnology Advances, 1996;14, 57-72 doi: 10.1016/0734-9750(96)00004-3.
11. Alpaz A. Akvaryum Tekniği ve Balıkları. Acargil Matbaası, İzmir, 1984 s:285-286.
12. Streisinger G, Walker C, Dower N, Knauber D, Singer F. Production of clones of homozygous diploid zebra fish (Brachydanio rerio). Nature, 1981;. 291:293-296. https://doi.org/10.1038/291293a0
13. Laale HW. The Biology and Use of Zebrafish, Brachydanio rerio in Fisheries Research. J Fish Biol, 1977; 10:121-173 doi:10.1111/j.1095-8649.1977.tb04049.x
14. Fort, T. D., Negley, J., & Mcewen, T. Drinks Like a Fish: Neural Maturation Mitigates the Effects of Ethanol on Associative Learning in Zebrafish (Danio rerio). International Journal of Comparative Psychology, 2019,32 https://doi.org/10.46867/ijcp.2019.32.00.04.
15. Joshi MH, Balamurugan P, Venugopalan VP, Rao TS. Biofouling. Dense fouling in acid transfer pipelines by an acidophilic rubber

- degrading fungus. 2011 Jul;27(6):621-9. doi: 10.1080/08927014.2011.594162.
16. Sun, Y., Oberley, L.W., Li, Y. A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase, *Clin Chem* 1988;34/3: 497-500.
 17. Aebi, H.. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology* 1984;105: 121-126 doi: 10.1016/s0076-6879(84)05016-3.
 18. Pradelles, P., Grassi, J., & Maclouf, J. Enzyme immunoassays of eicosanoids using acetylcholine esterase as label: an alternative to radioimmunoassay. *Analytical Chemistry*, 1985;57(7), 1170-1173 <https://doi.org/10.1021/ac00284a003>
 19. Maclouf, J., Grassi, J., & Pradelles, P. Development of enzyme-immunoassay techniques for measurement of eicosanoids. In *Prostaglandin and Lipid Metabolism in Radiation Injury* (pp. 355-364). Springer, Boston, MA, 1987.
 20. Moe, R. A., Kirpan, J. and Linegar, C. R. Toxicology of hydroxypyridinethione. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1960;2, 156-170 doi: 10.1016/0041-008x(60)90045-4.
 21. Olin, C. Sodium Omadine, rat hepatocyte primary culture/DNA repair test. *Pharmakon Research International*, 1987a 35, 78.
 22. Min, By., Saravanan, M., Nam, S., Eom, H., Rhee, J. Waterborne zinc pyrithione modulates immunity, biochemical, and antioxidant parameters in the blood of olive flounder, *Fish & Shellfish Immunology*, 2019;92, 469-479. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.06.048>
 23. Karasu Benli AC, Sahin D, Memmi BK, Sepici-Dinçel A. Karbarile maruz kalan tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) antioksidan enzim düzeyleri. *Turk J. Biochem.* 2012;37 (2):162-166.
 24. Sousa, Ap., Nunes, B. Standard and biochemical toxicological effects of zinc pyrithione in *Daphnia magna* and *Daphnia longispina*, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2020;80, 103402, <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103402>.